



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Ciencias Biológicas

Unidad de Posgrado

**Estimación de la incertidumbre asociada al recuento  
del fitoplancton obtenido de la laguna La Viuda, Lima-  
Perú**

**TESIS**

Para optar el Grado Académico de Magíster en Ecosistemas y  
Recursos Acuáticos con mención en Ecosistemas Acuáticos

**AUTOR**

Janet LAURA HUANACO

**ASESOR**

Haydee MONTOYA TERREROS

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Laura, J. (2019). *Estimación de la incertidumbre asociada al recuento del fitoplancton obtenido de la laguna La Viuda, Lima-Perú*. Tesis para optar el grado de Magíster en Ecosistemas y Recursos Acuáticos con mención en Ecosistemas Acuáticos. Unidad de Posgrado, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

---

## **Hoja de metadatos complementarios**

**Código ORCID del autor:** No tengo

**Código ORCID del asesor:** 0000-0001-9052-1093

**DNI del autor:** 40157960

**Grupo de investigación:** No pertenezco

**Institución que financia parcial o totalmente la investigación:** Autofinanciado

**Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación. Debe incluir localidades y/o coordenadas geográficas:**

La laguna La Viuda, ubicada en las coordenadas: latitud 11°21'27.85"S y longitud 76°26'23.41"O, a una altura aproximada de 4500 metros sobre el nivel del mar, localizada en la provincia de Canta-Departamento de Lima.

Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicada en las coordenadas: latitud 12°03'35.28"S y longitud 77°04'55.67"O, localizada en el Departamento de Lima.

**Año o rango de años que la investigación abarcó:** Enero 2016-marzo 2019.





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



VICEDECANATO DE INVESTIGACION Y POSGRADO

UNIDAD DE POSGRADO

Exped. N° 182-UPG-FCB-2019

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE  
MAGÍSTER EN ECOSISTEMAS Y RECURSOS ACUÁTICOS**

Siendo las 8:35 horas del día 13.11.2019 en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Biológicas, el Jurado de Tesis presidido por:

Dra. Ana Asunción Huamantínco Araujo	e integrado por
Mg. Iris Margot Samanez Valer	(Miembro)
Mg. Liliana del Rosario Tapia Ugaz	(Miembro)
Dra. Haydee Montoya Terreros	(Asesora)

Se reunió para la sustentación oral y pública de la Tesis para optar al Grado Académico de Magíster en Ecosistemas y Recursos Acuáticos con mención en Ecosistemas Acuáticos que solicitara la Bachiller Doña **JANET LAURA HUANACO**.

Después de darse lectura al Expediente N° 182-UPG-FCB-19, en el que consta haberse cumplido con todas las disposiciones reglamentarias, los señores miembros del Jurado, recepcionaron la exposición de la Tesis Titulada:

**“ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE ASOCIADA AL RECuento DEL FITOPLANCTON OBTENIDO DE LA LAGUNA LA VIUDA, LIMA - PERÚ”,** y formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por la graduando.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú. Decana de América

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



VICEDECANATO DE INVESTIGACION Y POSGRADO

UNIDAD DE POSGRADO

Acto seguido el Jurado procedió a la votación la que dio como resultado el calificativo de: *Muy Bueno con la nota de 17*

A continuación la Presidente del Jurado de Tesis recomienda que la Facultad proponga que la Universidad le otorgue el grado académico de Magíster en Ecosistemas y Recursos Acuáticos con mención en Ecosistemas Acuáticos a la Bachiller **JANET LAURA HUANACO**.

Siendo las *10:50* se levantó la Sesión, recibiendo la graduando las felicitaciones de los señores miembros del Jurado y público asistente.

Se extiende la presente Acta en Lima, a los 13 días del mes de noviembre del año 2019.

**Dra. Ana A. Huamantínco Araujo**  
Profesora Principal a D.E.  
PRESIDENTE  
REGINA N° 11442

**Dra. Haydee Montoya Terreros**  
Profesora Principal a T.C.  
ASESORA  
REGINA N° 13980

**Mg. Iris M. Samanez Valer**  
Profesora Principal a D.E.  
MIEMBRO  
REGINA N° 11166

**Mg. Liliana del R. Tapia Ugaz**  
Profesora Asociada a D. E.  
MIEMBRO

## **AGRADECIMIENTOS**

*Deseo expresar mis sinceros agradecimientos a las siguientes personas, pues sin ellos no hubiese sido posible el desarrollo del presente trabajo:*

*A mi Asesora, Dra. Haydee Montoya por sus conocimientos, experiencia, paciencia y consejos en la elaboración de esta Tesis.*

*Al Ph. D. Pedro Castellanos, por su asesoría, paciencia y brindarme sus instalaciones para completar el presente trabajo.*

*A todos los miembros del jurado por sus observaciones y aportes para la mejora de este trabajo: Dra. Ana Huamantínco Araujo, Mg. Liliana Tapia Ugaz y Mg. Iris Samanez Valer.*

*A la Blga. Eliana Benedetti Mallqui por su conocimiento, asesoría y experiencia en el tema de incertidumbre.*

*A la Mg. Ysela Agüero, por su conocimiento, asesoría y aporte en la parte estadística del muestreo.*

*Al Blgo. Renzo Quiroz por su apoyo en la parte de muestreo, logística y por la proporción de la data fisicoquímica.*

*A la Blga Nancy Carrasco Apaza, por su asesoría en la evaluación de la data fitoplanctónica.*

*Al Ing. Giancarlo Ganggini Silva, por su asesoría en la parte de incertidumbre.*

*Al Lic. José López Castro, por su asesoría en la parte de incertidumbre.*

*A todas las personas que han aportado de alguna u otra manera en esta tesis.*

*Finalmente, expresar mi agradecimiento al Señor Jesucristo, quien siempre me ha acompañado a lo largo de mi vida, mi profunda gratitud y amor.*

## ÍNDICE GENERAL

CARÁTULA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABLAS.....	xi
LISTA DE ANEXOS.....	xix
RESUMEN.....	xxiv
ABSTRACT.....	xxv
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	3
MARCO TEÓRICO.....	10
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	30
MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
1. Área de estudio.....	31
2. Diseño de muestreo.....	31
3. Análisis de la calidad del agua.....	34
4. Diseño de estudio del fitoplancton.....	35
4.1. Recolección de muestras.....	35
4.2. Identificación y evaluación del fitoplancton de la laguna La Viuda.....	35
5. Estimación de la incertidumbre.....	36
5.1. Estimación de la incertidumbre cualitativa.....	36
5.2. Cultivo del material de referencia de trabajo para fitoplancton....	38
5.3. Estimación de la incertidumbre cuantitativa.....	39
5.3.1. Estimación de la incertidumbre del muestreo.....	39
5.3.2. Estimación de la incertidumbre del análisis aplicando la ley de propagación de la incertidumbre.....	43
RESULTADOS.....	49
1. Área de estudio.....	49
1.1. Análisis de la calidad del agua.....	49
1.2. Estudio del fitoplancton.....	54

1.2.1. Evaluación preliminar del fitoplancton.....	54
1.2.2. Evaluación estacional del fitoplancton.....	57
2. Estimación de la Incertidumbre cualitativa .....	63
2.1. Incertidumbre cualitativa de la División.....	63
2.2. Incertidumbre cualitativa de género.....	73
3. Estimación de la incertidumbre cuantitativa .....	74
3.1. Estimación de la incertidumbre de muestreo.....	74
3.1.1. Estimación de la incertidumbre de muestreo para muestra inoculada con <i>Oocystis lacustris</i> ( <i>in vitro</i> ).....	74
3.1.2. Estimación de la incertidumbre de muestreo para muestra inoculada con <i>Nitzschia</i> sp. ( <i>in vitro</i> ).....	78
3.1.3. Estimación de la incertidumbre de muestreo para <i>Oocystis</i> <i>lacustris</i> en muestra proveniente de campo ( <i>in situ</i> ).....	82
3.1.4. Estimación de la incertidumbre de muestreo para <i>Nitzschia</i> sp. en muestra proveniente de campo ( <i>in situ</i> ).....	85
3.2. Estimación de la incertidumbre del análisis.....	86
3.2.1. Estimación de la incertidumbre del análisis para <i>Oocystis</i> <i>lacustris</i> .....	86
3.2.2. Estimación de la incertidumbre del análisis para <i>Nitzschia</i> sp.....	90
4. Estimación de la incertidumbre asociada al recuento del fitoplancton obtenido de la laguna La Viuda.....	96
DISCUSIÓN .....	103
CONCLUSIONES.....	131
RECOMENDACIONES.....	133
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	134
ANEXOS.....	144

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama esquemático de un típico proceso de medición incluyendo el muestreo, preparación física de la muestra (incluyendo transporte) y análisis.

Fuente: Traducido de Grøn *et al.*, 2007

Figura 2. Los principios del diseño de réplica con uno (izquierda) y dos (derecha) niveles de divisiones. Fuente: Traducido de Grøn *et al.*, 2007

Figura 3. Diagrama de Ishikawa o diagrama “espina de pescado”, la línea roja señala al mensurando, las líneas negras son los principales parámetros de la ecuación matemática y las líneas celestes son otras fuentes de incertidumbres asociadas a estos parámetros.

Figura 4. Diagrama de árbol para una clave taxonómica a nivel de especies para *Geranium*. Se selecciona de un organismo a identificar y en base a la observación se elige paso a paso los rasgos característicos que posee hasta dar con la especie. Adaptado de Osborne, 1962.

Figura 5. Diagrama de árbol para una clave taxonómica a nivel de especies para *Geranium*. Los números indican el número de organismos que siguieron esta vía de identificación, la línea roja indica la vía para identificar *G. molle*. Adaptado de Osborne, 1962.

Figura 6. Diagrama de árbol para una clave taxonómica a nivel de especies para *Geranium*. Las características de cada paso de identificación fueron codificadas por un número (1,1',2, 2') que están dentro del cuadro, los números encima de las flechas son el número de organismos que siguieron esa ruta de identificación. Adaptado de Osborne, 1962.

Figura 7. Diagrama de árbol para el cálculo del teorema de Bayes en el cual se pretende calcular la probabilidad de identificar *G. molle* dado que *G. molle* está presente  $P(I+/G+)$ .

Figura 8. Estaciones de muestreo para la evaluación preliminar del fitoplancton de la laguna La Viuda (4500msnm) en los meses de agosto y noviembre del 2016. Fuente: Google Earth.

Figura 9. Muestreo estratificado no aleatorio de la laguna La Viuda para el estudio de la variabilidad estacional del fitoplancton en los meses de abril, julio y noviembre del 2017. Tres estratos (S=estrato superior, orientado al norte: líneas rojas; M=estrato medio: líneas verdes e I=estrato inferior, orientado al sur: líneas amarillas). Fuente: Google Earth.

Figura 10. Láminas con montaje semipermanentes de la laguna La Viuda. Los círculos negros son los campos encerrados con un plumón indeleble negro que contienen el organismo de interés.

Figura 11. Diagrama esquemático del proceso de medida que incluye el muestreo, la preparación física (incluyendo el transporte) y el análisis del organismo fitoplanctónico. Adaptado de Grøn *et al.*, 2007.

Figura 12. Modelo de diseño experimental de estudio para estimar la incertidumbre cuantitativa del muestreo, se escogió el tipo de diseño de réplica con dos divisiones para un objetivo de muestreo de máxima concentración de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. Se tomaron siete muestras del objetivo de muestreo, de las cuales uno de ellos fue enviado a un laboratorio de referencia.

Figura 13. Modelo de diseño experimental de estudio para estimar la incertidumbre cuantitativa del muestreo, se escogió el tipo de diseño de réplica con dos divisiones para un objetivo de muestreo de mínima concentración de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. Se tomaron siete muestras del objetivo de muestreo, de las cuales uno de ellos fue enviado a un laboratorio de referencia.

Figura 14. Diagrama de Ishikawa donde se señala las principales fuentes de incertidumbre del mensurando a estudiar, la línea roja señala al mensurando (concentración del fitoplancton superficial de la laguna La Viuda), las líneas negras son los principales parámetros de la ecuación matemática y las líneas celestes son otras fuentes de incertidumbres asociadas a estos parámetros.



Figura 15. Concentración de metales totales (ppm) por ICP óptico de las estaciones E-01, E-02 y E-08 de la laguna La Viuda en primavera (noviembre - 2016).

Figura 16. Concentración de los parámetros fisicoquímicos en el estrato superior (S-05), estrato medio (M-05) y estrato inferior (I-03) de la laguna La Viuda para los meses de abril, julio y noviembre del 2017.

Figura 17. Abundancia (%) del fitoplancton en tres estaciones de muestreo (E-01, E-02 y E-03) de la laguna La Viuda, (agosto–2016).

Figura 18. Abundancia (%) del fitoplancton en siete estaciones de muestreo (E-01, E-02, E-04, E-05, E-06, E-07 y E-08) para noviembre-2016. La clorofita *Oocystis lacustris* fue la especie más abundante (línea amarilla) en la E-06 de la laguna La Viuda.

Figura 19. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo de la laguna La Viuda, abril – 2017. (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior)

Figura 20. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo de la laguna La Viuda, abril - 2017. *Fragilaria* sp. fue la especie más abundante en todas las estaciones. (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior)

Figura 21. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en julio – 2017, la laguna La Viuda.

Figura 22. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en julio-2017, laguna La Viuda. La clorofita *Sphaerocystis schroeteri* fue la especie más abundante en todas las estaciones.

Figura 23. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en noviembre – 2017, la laguna La Viuda.



Figura 24. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en julio – 2017, laguna La Viuda. *Oocystis lacustris* fue la más abundante en todas las estaciones seguido de *Elakatothrix gelatinosa* Wille.

Figura 25. A. *Gymnodinium* sp., B. *Oocystis lacustris*. C. *Peridium* sp. D. *Epithemia* sp. E. *Crucigenia rectangularis*, F. *Cymbella* sp. G. *Tetraedron minimum*. H. *Denticula* sp. I. *Sphaerocystis* sp. J. *Navicula* sp. 2, K. *Crucigenia quadrata*. L. *Nitzschia* sp 1. M. *Elakatothrix gelatinosa*. N. *Scenedesmus* sp. O. *Ankistrodesmus spiralis*

Figura 26. Incertidumbre cualitativa del analista 1 para el reconocimiento de la División Dinophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

Figura 27. Incertidumbre cualitativa del analista 1 para el reconocimiento de la División Bacillariophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

Figura 28. Incertidumbre cualitativa del analista 1 para el reconocimiento de la División Chlorophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

Figura 29. Incertidumbre cualitativa del analista 2 para el reconocimiento de la División Dinophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

Figura 30. Incertidumbre cualitativa del analista 2 para el reconocimiento de la División Bacillariophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

Figura 31. Incertidumbre cualitativa del analista 2 para el reconocimiento de la División Chlorophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

Figura 32. Incertidumbre cualitativa del analista 3 para el reconocimiento de la División Dinophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

Figura 33. Incertidumbre cualitativa del analista 3 para el reconocimiento de la División Bacillariophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

Figura 34. Incertidumbre cualitativa del analista 3 para el reconocimiento de la División Chlorophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

Figura 35. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo de la laguna La Viuda, abril – 2017; los gráficos incorporan los números correlativos que indican 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbres para *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. donde LI es el límite inferior y LS es el Límite superior. A) LI-3, B) LS-3, C) LI-4, D) LS-4, E) LI-5 y F) LS-5

Figura 36. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo de la laguna La Viuda, julio – 2017; los gráficos incorporan los números correlativos que indican 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbres para *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. donde LI es el límite inferior y LS es el Límite superior. A) LI-3, B) LS-3, C) LI-4, D) LS-4, E) LI-5 y F) LS-5

Figura 37. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo de la laguna La Viuda, noviembre – 2017; los gráficos incorporan los números correlativos que indican 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbres para *Oocystis lacustris*

y *Nitzschia* sp. donde LI es el límite inferior y LS es el Límite superior. A) LI-3, B) LS-3, C) LI-4, D) LS-4, E) LI-5 y F) LS-5.

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clave taxonómica para identificar especies de *Geranium*. Adaptado de Osborne, 1962.

Tabla 2. Probabilidades obtenidas a partir del teorema de Bayes para la identificación de *G. molle*.

Tabla 3. Ubicación espacial de las estaciones de muestreo (UTM) para el mes de agosto y noviembre del 2016 de la laguna La Viuda.

Tabla 4. Ubicación espacial de las estaciones de muestreo estratificado no aleatorio (UTM) para los meses de abril, julio y noviembre del 2017 de la laguna La Viuda. (S=estrato superior, M=estrato inferior e I=estrato inferior)

Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos de las estaciones de muestreo E-01, E-02 y E-08 en la Laguna La Viuda en primavera (noviembre) - 2016.

Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos las estaciones de muestreo S-05, I-03 y M-05 de la laguna La Viuda en otoño (abril) - 2017.

Tabla 7. Parámetros fisicoquímicos las estaciones de muestreo S-05, I-03 y M-05 de laguna La Viuda en Invierno (julio) - 2017.

Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos de las estaciones de muestreo S-05, I-03 y M-05 de laguna La Viuda en primavera (noviembre) - 2017.

Tabla 9. Concentración (cel/mL) y su abundancia (%) por divisiones de fitoplancton en invierno (agosto – 2016), laguna La Viuda en las estaciones E-01, E-02 y E-03.

Tabla 10. Concentración (cel/mL) y su abundancia (%) por divisiones de fitoplancton en las estaciones de muestreo (E-01, E-02, E-04, E-05, E-06, E-07 y E-08) de la laguna La Viuda (noviembre–2016).

Tabla 11. Índices biológicos de diversidad alfa para las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en abril -2017, laguna La Viuda.

Tabla 12. Índices biológicos de diversidad alfa para las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en julio -2017, Laguna La Viuda.

Tabla 13. Índices biológicos de diversidad alfa para las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en noviembre -2017, Laguna La Viuda.

Tabla 14. Porcentaje de puntaje aprobado del 1er examen teórico, los analistas 1 y 2 no alcanzan el 100% de aprobación.

Tabla 15. Porcentaje de puntaje aprobado del 2do examen teórico, todos los analistas presentan un 100 % de aprobación

Tabla 16. Lista de códigos para las láminas (L) y campos evaluados (C) de los organismos fitoplanctónicos en la estimación de la incertidumbre cualitativa del nivel taxonómico de División.

Tabla 17. Porcentaje de puntaje aprobado para el primer examen teórico. Los analistas 1 y 2 no alcanzan el 100 % del porcentaje de aprobación

Tabla 18. Porcentaje de puntaje aprobado para el primer examen teórico. Todos los analistas alcanzan el 100 % del porcentaje de aprobación

Tabla 19. Lista de códigos para las láminas (L) y campos evaluados (C) de los organismos fitoplanctónicos en la estimación de la incertidumbre cualitativa del nivel taxonómico de División.

Tabla 20. Incertidumbre cualitativa para la identificación de género (1era evaluación). *Oocystis lacustris* presentó una incertidumbre de 0.93-0.95 para el analista 2.

Tabla 21. Incertidumbre cualitativa para la identificación de género (2da evaluación), todos los analistas presentaron una incertidumbre de 1.

Tabla 22. Datos de concentración celular para *Oocystis lacustris* en dos niveles: baja concentración CI-1 y alta concentración CI-2 (M-1, M-2, M-3, M-4, M-5 y M-6

son las muestras primarias de cada punto objetivo de muestreo, D1 y D2 son los análisis de duplicado de las muestras primarias).

Tabla 23. Análisis de ANOVA para el cálculo de la desviación estándar de los análisis de las muestras duplicadas y los análisis duplicados (diseño de réplica de dos divisiones) para *Oocystis lacustris*. Muestras sextuplicadas (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para *Oocystis lacustris* (cel/mL) y analizadas en duplicados (D1 y D2).

Tabla 24. Cálculo de la desviación estándar del muestreo de las muestras duplicadas y análisis duplicados para *Oocystis lacustris*. Muestras sextuplicadas (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para *Oocystis lacustris* (cel/mL) y analizadas en duplicados (D1 y D2).

Tabla 25. Resultados de los cálculos de ANOVA-incertidumbre de análisis-suma de cuadrados de las diferencias, dentro de los grupos (SSE-análisis) para *Oocystis lacustris*

Tabla 26. Resultados de los cálculos de ANOVA-incertidumbre de muestreo-suma de cuadrados de las diferencias, dentro de los grupos (SSmuestreo) para *Oocystis lacustris*

Tabla 27. Incertidumbre de la medición, muestreo y análisis para *Oocystis lacustris*

Tabla 28. Resultados del Z-score y RSD para las muestras de mínima concentración (CI-1) y máxima concentración (CI-2) inoculadas con *Oocystis lacustris* (*in vitro*).

Tabla 29. Datos de concentración celular para *Nitzschia* sp en dos niveles: baja concentración CI-1 y alta concentración C1-2 (M-1, M-2, M-3, M-4, M-5 y M-6 son las muestras primarias de cada punto objetivo de muestreo, D1 y D2 son los análisis de duplicado de las muestras primarias

Tabla 30. Análisis de ANOVA para el cálculo de la desviación estándar de los análisis de las muestras duplicadas y los análisis duplicados (diseño de réplica de dos divisiones) para *Nitzschia* sp. Muestras sextuplicadas (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para *Nitzschia* sp. (cel/mL) y analizadas en duplicados (D1 y D2).

Tabla 31. Cálculo de la desviación estándar del muestreo de las muestras duplicadas y análisis duplicados para *Nitzschia* sp. Muestras sextuplicadas (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para *Nitzschia* sp (cel/mL) y analizadas en duplicados (D1 y D2).

Tabla 32. Resultados de los cálculos de ANOVA-incertidumbre de análisis-suma de cuadrados de las diferencias, dentro de los grupos (SSE-análisis) para *Nitzschia* sp.

Tabla 33. Resultados de los cálculos de ANOVA-incertidumbre de muestreo-suma de cuadrados de las diferencias, dentro de los grupos (SSmuestreo) para *Nitzschia* sp.

Tabla 34. Incertidumbre de la medición, muestreo y análisis para *Nitzschia* sp.

Tabla 35. Resultados del Z-score y RSD para las muestras de mínima concentración (CI-1) y máxima concentración (CI-2) inoculadas con *Nitzschia* sp. (*in vitro*)

Tabla 36. Datos de concentración celular para *Oocystis lacustris* en dos puntos de muestreo: P-1 y P-2, (M-1, M-2, M-3, M-4 son las muestras primarias de cada punto objetivo de muestreo, D1 y D2 son los análisis de duplicado de las muestras primarias.

Tabla 37. Análisis de ANOVA para el cálculo de la desviación estándar de los análisis de las muestras duplicadas y los análisis duplicados (diseño de réplica de dos divisiones) para *Oocystis lacustris*. Muestras cuadruplicadas (M1, M2, M3 y M4) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para *Oocystis lacustris* (cel/mL) y analizadas en duplicados (D1 y D2).

Tabla 38. Cálculo de la desviación estándar del muestreo de las muestras duplicadas y análisis duplicados para *Oocystis lacustris*. Muestras cuádruplicadas (M1, M2, M3 y M4) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para *Oocystis lacustris* (cel/mL) y analizadas en duplicados (D1 y D2).

Tabla 39. Resultados de los cálculos de ANOVA-incertidumbre de análisis-suma de cuadrados de las diferencias, dentro de los grupos (SSE-análisis) para *Oocystis lacustris*

Tabla 40. Resultados de los cálculos de ANOVA-incertidumbre de muestreo-suma de cuadrados de las diferencias, dentro de los grupos (SSmuestreo) para *Oocystis lacustris*

Tabla 41. Incertidumbre de la medición, muestreo y análisis para *Oocystis lacustris*

Tabla 42. Datos de concentración celular para *Nitzschia* sp en dos puntos de muestreo: P-1 y P-2, (M-1, M-2, M-3, M-4 son las muestras primarias de cada punto objetivo de muestreo, D1 y D2 son los análisis de duplicado de las muestras primarias.

Tabla 43. Cálculo de la Incertidumbre de la dispersión de microorganismos según la distribución de Poisson ( $W_z^2$ ) para *Oocystis lacustris* para la mínima concentración (CI-1), donde M es la muestra y D es el duplicado.

Tabla 44. Cálculo de la incertidumbre de la dispersión de microorganismos según la distribución de Poisson ( $W_z^2$ ) de *Oocystis lacustris* para la máxima concentración CI-2, donde M es la muestra y D es el duplicado

Tabla 45. Cálculo de la incertidumbre de la lectura de conteo ( $W_t^2$ ) de *Oocystis lacustris*, cuyo valor es el promedio de  $RSD^2$  el cual es 0.02, donde las letras A-P son las 16 láminas contadas una primera vez (lámina 1), al cambiar los rótulos se contaron por segunda vez (Lámina 2).



Tabla 46. Especificaciones técnicas de micropipeta de 5-50  $\mu\text{L}$ . Adaptado del folleto del fabricante Capp Denmark

Tabla 47. Cálculo de la incertidumbre de los duplicados de los análisis ( $W_{dp}^2$ ) para la concentración máxima de *Oocystis lacustris* (CI-2), D1 y D2 son los duplicados de los análisis

Tabla 48. Cálculo de la incertidumbre de los duplicados de los análisis ( $W_{dp}^2$ ) para la concentración mínima de *Oocystis lacustris* (CI-1), D1 y D2 son los duplicados de los análisis.

Tabla 49. Cálculo de la Incertidumbre de la dispersión de microorganismos según la distribución de Poisson ( $W_z^2$ ) de *Nitzschia* sp. para la mínima concentración CI-1, donde M es la muestra y D es el duplicado.

Tabla 50. Cálculo de la Incertidumbre de la dispersión de microorganismos según la distribución de Poisson ( $W_z^2$ ) de *Nitzschia* sp. para la máxima concentración CI-2, donde M es la muestra y D es el duplicado

Tabla 51. Cálculo de la incertidumbre de la lectura de conteo ( $W_t^2$ ) de *Nitzschia* sp. el valor de la incertidumbre es el promedio de  $RSD^2$  el cual es 0.70. donde las letras A-P son las 16 láminas contadas una primera vez (lámina 1), al cambiar los rótulos se contaron por segunda vez (Lámina 2).

Tabla 52. Cálculo de la incertidumbre de los duplicados de los análisis ( $W_{dp}^2$ ) para la concentración máxima de *Nitzschia* sp. (CI-2), D1 y D2 son los duplicados de los análisis.

Tabla 53. Cálculo de la incertidumbre de los duplicados de los análisis ( $W_{dp}^2$ ) para la concentración mínima de *Nitzschia* sp. (CI-2), D1 y D2 son los duplicados de los análisis.

Tabla 54. Cálculo de la incertidumbre combinada relativa con 5 fuentes de incertidumbre ( $W_z^2, W_f^2, W_t^2, W_{dp}^2$  y  $W_c^2$ ) y sus límites de confianza al 95%.

Tabla 55. Cálculo de la incertidumbre combinada relativa con 4 ( $W_z^2$ ,  $W_f^2$ ,  $W_t^2$  y  $W_{dp}^2$ ) fuentes de incertidumbre y sus límites de confianza al 95%.

Tabla 56. Cálculo de la incertidumbre combinada relativa con 3 ( $W_z^2$ ,  $W_f^2$  y  $W_{dp}^2$ ) fuentes de incertidumbre y sus límites de confianza al 95%.

Tabla 57. Resultados de la concentración de *Oocystis lacustris* (cel/mL) sin incertidumbre para abril, julio y noviembre 2017 de la laguna La Viuda.

Tabla 58. Resultados de la concentración de *Oocystis lacustris* (cel/mL) con 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre de la laguna La Viuda para abril 2017 en las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).

Tabla 59. Resultados de la concentración de *Oocystis lacustris* (cel/mL) con 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre de la laguna La Viuda para julio 2017 en las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).

Tabla 60. Resultados de la concentración de *Oocystis lacustris* (cel/mL) con 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre de la laguna La Viuda para noviembre 2017 en las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).

Tabla 61. Resultados de la concentración de *Nitzschia* sp. (cel/mL) sin sus respectivas incertidumbres para abril 2017 de la laguna La Viuda.

Tabla 62. Resultados de la concentración de *Nitzschia* sp. (cel/mL) con 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre de la laguna La Viuda para abril 2017 en las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).

Tabla 63. Resultados de la concentración de *Nitzschia* sp. (cel/mL) con 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre de la laguna La Viuda para julio 2017 en las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).

Tabla 64. Resultados de la concentración de *Nitzschia* sp. (cel/mL) con 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre de la laguna La Viuda para noviembre 2017 en las

estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Concepto de probabilidades

Anexo 2. Glosario de términos

Anexo 3. Examen taxonómico de divisiones de algas.

Anexo 4. Formato para la identificación de género de diatomeas según Prescott (1973).

Anexo 5. Formato para la identificación de género de clorofitas según Prescott (1973).

Anexo 6. Ingredientes de los medios de cultivos empleados en el aislamiento de microalgas

Anexo 7. Foto A y B, inoculación con varios organismos para determinar la incertidumbre cualitativa. Foto C y D, muestreo de agua inoculada con *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. mediante toma directa *in vitro*

Anexo 8. Procedimiento de inoculación para determinar la incertidumbre de muestreo (mínima y máxima concentración) para *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp.

Anexo 9. Pasos para el cálculo de ANOVA de una vía

Anexo 10. Metales totales (ppm) por ICP óptico observados en las estaciones E-01, E-02 y E-08 de la laguna La Viuda para el mes de noviembre del 2016.

Anexo 11. Elementos químicos (Metales totales) requeridos por el ECA para la categoría 2. Subcategoría C4 (Extracción y cultivo de peces hidrobiológicos en lagos y lagunas). En la gráfica se muestra en el eje de las abscisas los nombres de los metales y en el eje vertical el log de la concentración de estos metales (ppm). La línea roja es el límite establecido por el ECA para esta categoría, los tres puntos evaluados en noviembre del 2016 cumplen.

Anexo 12. Cálculo de la abundancia relativa ( $P_i$ ) y los Índices de diversidad alfa (Margalef, Shannon-Wiener, Simpson) para el fitoplancton de la laguna La Viuda (agosto-2016)

Anexo 13. Concentración (cel/mL) y la abundancia relativa ( $P_i$ ) del fitoplancton de la laguna La Viuda (noviembre-2016)

Anexo 14. Hoja de cálculo de  $P_i$ ,  $P_1 \cdot \log_2 P_1$  para realizar los cálculos de los índices de diversidad alfa del fitoplancton de la laguna La Viuda (noviembre-2016)

Anexo 15. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 1- 1era evaluación práctica de la Identificación de Dinoflagelados usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa estuvo entre 0.62-0.71.

Anexo 16. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 1- 2da evaluación práctica de la Identificación de Dinoflagelados usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa estuvo entre 0.98-1.

Anexo 17. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 1- 3era evaluación práctica de la Identificación de Dinoflagelados usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa fue de 1.

Anexo 18. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 1- 1ra evaluación práctica de la Identificación de Diatomeas usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa estuvo entre 0.95-0.97.

Anexo 19. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 1- 2da evaluación práctica de la Identificación de Diatomeas usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa fue de 1.

Anexo 20. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 3- 1ra evaluación práctica de la Identificación de Dinoflagelados usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa fue de 1.

Anexo 21. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 3- 2da evaluación práctica de la Identificación de Dinoflagelados usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa fue de 1.

Anexo 22. Prueba de normalidad para los recuentos obtenidos de las muestras inoculadas CI-1 y CI-2 para *Oocystis lacustris*, el valor de significación (Sig.) es mayor a 0.05 por lo tanto los datos son normales

Anexo 23. Prueba de normalidad para los recuentos obtenidos de las muestras inoculadas CI-1 y CI-2 para *Nitzschia* sp. el valor de significación (Sig.) es mayor a 0.05 por lo tanto los datos son normales.

Anexo 24. Prueba de normalidad para los recuentos obtenidos de las muestras obtenidos de campo P1 y P2 para *Oocystis lacustris*, el valor de significación (Sig.) es mayor a 0.05 por lo tanto los datos son normales.

Anexo 25. Prueba de normalidad para los recuentos obtenidos de las muestras obtenidos de campo P1 y P2 para *Nitzschia* sp., el valor de significación (Sig.) es menor a 0.05 por lo tanto los datos no son normales.

Anexo 26. Prueba de normalidad para la distribución del conteo por campo microscópico para *Nitzschia* sp. por cada lámina CI-2 (máxima concentración), el valor de significación (Sig.) es menor a 0.05 por lo tanto los datos no son normales.

Anexo 27. Prueba de normalidad para la distribución del conteo por campo microscópico para *Nitzschia* sp. por cada lámina CI-1 (mínima concentración), el valor de significación (Sig.) es menor a 0.05 por lo tanto los datos no son normales

Anexo 28. Prueba de normalidad para la distribución del conteo por campo microscópico para *Oocystis lacustris* por cada lámina CI-2 (máxima concentración), el valor de significación (Sig.) es menor a 0.05 por lo tanto los datos no son normales

Anexo 29. Prueba de normalidad para la distribución del conteo por campo microscópico para *Oocystis lacustris* por cada lámina CI-1 (mínima concentración), el valor de significación (Sig.) es menor a 0.05 por lo tanto los datos no son normales

Anexo 30. Cálculo del RSD para la máxima concentración de *Oocystis lacustris* en base a 12 láminas (CI-2-1 a CI-2-6), se realizó el conteo hasta llegar a una suma de 400 células por lámina (campos contados entre 155-271)

Anexo 31. Cálculo del RSD para la mínima concentración de *Oocystis lacustris* en base a 12 láminas (CI-2-1 a CI-2-6), se realizó el conteo por lámina (franjas contadas entre 26-52).

Anexo 32. Cálculo del RSD para la máxima concentración de *Nitzschia* sp. en base a doce láminas (CI-2-1 a CI-2-6), se realizó el conteo por lamina (campos contados entre 156-270)

Anexo 33. Cálculo del RSD para la mínima concentración de *Nitzschia* sp. en base a doce láminas (CI-2-1 a CI-2-6), se realizó el conteo por lamina (franjas contadas entre 26 -52)

Anexo 34. Modelo de distribución de frecuencia para la máxima concentración de *Oocystis lacustris* obtenido con el programa EasyFit 5.6, el cual coloca en primer lugar al tipo de distribución geométrica y en segundo lugar a la distribución de Poisson (Circulo en rojo).

Anexo 35. Muestras estacionales del fitoplancton de la Laguna La Viuda obtenidos por el método de concentración: A) abril-2017, B) julio-2017, C) noviembre-2017

Anexo 36. Índices biológicos de diversidad alfa para las doce estaciones de muestreo (abril -2017) donde se incorporan 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbres de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. donde LI es el límite inferior y LS es el Límite superior para las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).

Anexo 37. Índices biológicos de diversidad alfa para las doce estaciones de muestreo (julio -2017) donde se incorporan 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbres de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. donde LI es el límite inferior y LS es el Límite superior para las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior)

Anexo 38. Índices biológicos de diversidad alfa para las doce estaciones de muestreo (noviembre -2017) donde se incorporan 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbres de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. donde LI es el límite inferior y LS es el Límite superior para las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior)



## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es estimar la incertidumbre asociada al recuento del fitoplancton obtenido de la Laguna La Viuda, Lima-Perú, se establecieron muestreos estacionales (variación temporal) en el año 2017 en doce estaciones de muestreos (variación espacial). *Oocystis lacustris* Chodat y *Nitzschia* sp. fueron los organismos evaluados. La incertidumbre cualitativa fue calculada por el Teorema de Bayes, el cual fue 1 para los dos organismos, los resultados muestran que las diatomeas tuvieron más alto porcentaje de aprobación del nivel de identificación División, para uniformizar a los analistas se tuvo que hacer refuerzos teóricos para estandarizar la terminología usada en la identificación y obtener una probabilidad de 1 en la identificación. Para la incertidumbre de muestreo se usó ANOVA de una vía; para el muestreo *in vitro*, el  $RSD_{\text{muestreo}}$  para *Oocystis lacustris* fue 18.20% y el  $RSD_{\text{análisis}}$  (18.22%) no hubo variabilidad alta entre CI-1 (mínima concentración) y CI-2 (máxima concentración); mientras que el  $RSD_{\text{muestreo}}$  *in situ* para *Oocystis lacustris* fue 0, esto es debido a que los objetivos de muestreos comparados fueron valores altos y cercanos entre sí. El  $RSD_{\text{muestreo}}$  *in vitro* fue 28.16% para *Nitzschia* sp. y se observa un  $RSD_{\text{análisis}}$  alto (50.72 %) debido a que los valores inoculados de CI-1 y CI-2 fueron próximos a cero, la data de *Nitzschia* sp *in situ* no fue evaluada porque no presentaba normalidad. La incertidumbre del análisis fue calculada por la ley de propagación de incertidumbre, donde la incertidumbre combinada relativa del recuento ( $w_y$ ) fue calculada con 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre para CI-1 y CI-2 de ambos organismos, donde la mayor variabilidad es aportada por la incertidumbre de la distribución del campo microscópico y la incertidumbre de la lectura. El  $w_y$  considerando 3 fuentes de incertidumbre para *Oocystis lacustris* fue: CI-1=1.0296 y CI-2=0.1530; para *Nitzschia* sp. fue: CI-1=1.0015 y CI-2=0.5392. Finalmente, se reportan la abundancia del fitoplancton incorporando la incertidumbre del recuento de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp según la ley de propagación de incertidumbre para los meses de abril, julio y noviembre del 2017 comparándolo con la data sin incorporar la incertidumbre, el cual afecta los valores de los índices de diversidad alfa con relación a la variabilidad espacio-temporal.

**Palabras claves:** Incertidumbre del análisis, incertidumbre cualitativa, incertidumbre del muestreo, Laguna La Viuda, fitoplancton.

## ABSTRACT

The objective of this work is to estimate the uncertainty associated with the phytoplankton count obtained from La Viuda Lagoon, Lima-Peru, seasonal sampling (temporary variation) was established in 2017 in twelve sampling stations (spatial variation). *Oocystis lacustris* Chodat and *Nitzschia* sp. were the organisms evaluated. The qualitative uncertainty was calculated by the Bayes Theorem, which was 1 for the two organisms, the results show that the diatoms had a higher percentage of approval of the Division identification level, to standardize the analysts, theoretical reinforcements had to be made to standardize the terminology used in the identification and obtain a probability of 1 in the identification. For one sample uncertainty, one-way ANOVA was used; for in vitro sampling, the  $RSD_{\text{sampling}}$  for *Oocystis lacustris* was 18.20% and the  $RSD_{\text{analysis}}$  (18.22%) there was no high variability between CI-1 and CI-2; while the  $RSD_{\text{sampling}}$  *in situ* for *Oocystis lacustris* was 0, this is because the sampling objectives compared were high and close to each other. The  $RSD_{\text{sampling}}$  *in vitro* was 28.16% for *Nitzschia* sp. and a high  $RSD_{\text{analysis}}$  (50.72%) is observed because the inoculated values of CI-1 and CI-2 were close to zero, the data from *Nitzschia* sp *in situ* was not evaluated because it did not present normality. The uncertainty of the analysis was calculated by the law of propagation of uncertainty, where the relative combined uncertainty of the count ( $w_y$ ) was calculated with 5, 4 and 3 sources of uncertainty for minimum (CI-1) and maximum concentration (CI-2) of both organisms, where the greatest variability is contributed by the uncertainty of the distribution of the microscopic field and the uncertainty of the reading. The  $w_y$  considering 3 sources of uncertainty for *Oocystis lacustris* was: CI-1 = 1.0296 and CI-2 = 0.1530; for *Nitzschia* sp. it was: CI-1 = 1.0015 and CI-2 = 0.5392. Finally, the abundance of phytoplankton is reported incorporating the uncertainty of the count of *Oocystis lacustris* and *Nitzschia* sp according to the law of propagation of uncertainty for the months of April, July and November of 2017 comparing it with the data without incorporating the uncertainty, which affects the values of the alpha diversity indices in relation to the spatio-temporal variability.

**Keywords:** qualitative uncertainty, sampling uncertainty, quantitative uncertainty, Lagoon La Viuda, Phytoplankton.

## INTRODUCCIÓN

Generalmente, cuando escuchamos la palabra incertidumbre, lo relacionamos con el concepto de duda, pero para los metrologos la incertidumbre de la medición no implica una duda sobre la validez de los resultados de una medición; por el contrario, el conocer la incertidumbre indica una mayor confianza en la validez de una medición. La incertidumbre es principalmente una herramienta para la toma de decisiones. (AQUAREF, 2012). La incertidumbre de la medición es un parámetro asociado con el resultado de un mensurando (partícula sujeta a medición) y viene a ser la dispersión de los valores atribuibles a este mensurando. El concepto de incertidumbre de la medición en ensayos analíticos fue ampliamente estudiado y aplicado inicialmente en el campo de la química, luego hubo una innovación al estudiar la incertidumbre en biología para ensayos microbiológicos; todo esto debido a que la incertidumbre es importante porque es una indicación cuantitativa de la calidad del resultado para personas o entidades que lo utilicen y puedan evaluar su confiabilidad (Niemelä, 2003; JCGM, 2008), en nuestro país al estar alineado con entidades internacionales se exigen que los resultados sean confiables y de calidad (INACAL, 2014).

En países europeos, como España, existe control sobre el fitoplancton tóxico en las zonas de producción destinados al consumo humano, por lo que a veces es necesario el cierre de una zona de producción si los niveles de biotoxinas superan los límites legales o hay riesgo para la salud pública y es por ello que los recuentos del fitoplancton potencialmente tóxico está implicado en la toma de decisiones del control sanitario de alimentos, por lo tanto conocer la incertidumbre para saber su orden de magnitud, es relevante en la toma de decisiones (Pazos *et al.*, 2008). Por otro lado, también hay interés en conocer y estudiar la incertidumbre de los resultados de otros organismos fitoplanctónicos como las diatomeas, las cuales son indicadoras de la calidad del agua, por ello conocer la incertidumbre contribuiría en una mejor interpretación del resultado de la calidad de aguas (AQUAREF, 2012).

En el campo ambiental, con los laboratorios que hacen la identificación y recuento, las tasas de error taxonómico se desconocen y su conocimiento está dado a la suerte. Esta opinión es el resultado de la confianza tradicional en la opinión de expertos y a la falta de claridad en cuanto a la necesidad de dicha información, pero

ahora con la protección del ambiente, la biodiversidad y la sostenibilidad, hay mayor necesidad de comprender la incertidumbre asociada con las evaluaciones biológicas y hay un esfuerzo para documentar la calidad de los datos taxonómicos (Stribling y Pavlik, 2008).

La importancia de la incertidumbre en los monitoreos ambientales y biológicos es porque el muestreo contribuye substancial o incluso de manera dominante en la cuantificación de la incertidumbre analítica; por sus impactos en la toma de decisiones que puedan traer grandes consecuencias en el medio ambiente; porque podemos volver a revisar el diseño de muestreo para cada cuerpo de agua, mejorar la precisión y rentabilidad de nuestro esquema de monitoreo; y podemos hacer un mejor uso de los índices ecológicos para la clasificación de la calidad ecológica acuática (Zorzi *et al.*, 2002; Grøn *et al.*, 2007; Thompson, 2008; WISER, 2012). La incertidumbre ha atraído la atención en ecología principalmente por sus impactos en la toma de decisiones. En el campo de la ecología y conservación biológica el conocer las fuentes de incertidumbre puede evitar graves problemas en las decisiones de gestión sobre la asignación de recursos debido a la vaguedad en la terminología científica, subespecificidad, ambigüedad, etc. Por ejemplo: cuando se revisa un taxon en el caso de nuevas colecciones de museos y herbarios, o la sobre-sub estimación de la población de un determinado taxón. (Regan *et al.*, 2002; Stribling *et al.*, 2003)

El problema que se plantea en el presente estudio es la necesidad de contar con mediciones confiables como la incertidumbre en los resultados del fitoplancton de un determinado ecosistema acuático lentic; actualmente la incertidumbre de estos resultados no es reportada, por lo tanto, no se puede afirmar que estos resultados sean comparables entre las mediciones fitoplanctónicas de una matriz determinada, realizadas con un mismo instrumento, material de referencia, método estándar u otros. Es por ello que el presente estudio tiene como objetivo estimar la incertidumbre asociada al recuento del fitoplancton obtenido de la laguna La Viuda, Lima-Perú.

## ANTECEDENTES

El concepto de incertidumbre es un atributo cuantificable y es relativamente nuevo en la historia de la medición, aunque antes en la ciencia ya se practicaba el error y el análisis del error, esto era una práctica de la medición de la ciencia o la metrología. Pero aun así se ha reconocido que, aunque el error se conozca existe aún la incertidumbre acerca de la corrección del resultado mencionado, es decir qué tanto es verdadero el valor de la cantidad que se mide (JCGM, 2008).

En 1940, Jennison y Wadsworth describen maneras para estimar el error de un procedimiento de dilución complejo que está involucrado en la estimación del número de bacterias. Este trabajo fue considerado más adelante por Niemelä (2003) para estimar la incertidumbre en Microbiología.

El concepto de la medida de la incertidumbre ha sido reconocido por los químicos por muchos años, pero fue con la publicación en 1993 de la “Guía de la expresión de la incertidumbre de la medición” (GUM) por la ISO en colaboración con BIPM, IEC, ILAC, IUPAC y OIML que se establecieron formalmente reglas generales para la evaluación y expresión de la incertidumbre de la medida a través de amplios espectros de mediciones. Luego surge el documento de la EURACHEM/CITAC que muestra como los conceptos de la guía ISO puede ser aplicado en las mediciones químicas; primero, introduce el concepto de la incertidumbre y hace la distinción entre la incertidumbre y el error; después sigue una descripción de los pasos para evaluar la incertidumbre. En 1995, aparece la primera edición de esta guía EURACHEM “Cuantificación de la incertidumbre en mediciones analíticas” basada en la guía ISO. Luego se publica una segunda edición en colaboración con el CITAC (Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry) en el 2000 a raíz de las experiencias prácticas de la incertidumbre en los laboratorios químicos; en esta edición se introduce procedimientos de garantía de calidad en los laboratorios. (EURACHEM/CITAC 2000).

En 1999, aparece la primera edición de la norma internacional ISO/IEC 17025 “Requerimientos generales para la competencia de laboratorios de ensayos y calibración” donde introducen el concepto de incertidumbre de la medición y lo establecen como requisito de esta norma en la sub-cláusula 5.4.6, hasta ese

momento el incertidumbre era bien conocido en el área de calibración, pero no tan conocido en muchas áreas de ensayos por lo que se pensaba en ese entonces que tomaría más tiempo implementarla (van de Leemput, 2000)

En el año 2001, se publicó una guía para el cálculo y expresión de incertidumbre en mediciones microbiológicas (en el idioma finlandés) en el Centro de Metrología y Acreditación (MIKES), esto fue desarrollado por el grupo de trabajo de microbiología del Consejo de metrología para la química. En el 2003, Niemelä publica la versión en inglés de esta guía que a la vez es una segunda edición, en esta versión se corrigieron errores, se agregó una nueva sección y ejemplos en la estimación de límites de confianza asimétricos. Niemelä se inspiró en dos documentos de la expresión de incertidumbre en química, uno publicado por la ISO (Organización internacional para la estandarización) y por la EURACHEM, Niemelä toma de estas publicaciones el principio denominado “ley de propagación de incertidumbre” en el cual toma la idea de la incertidumbre combinada que era hasta el momento desconocido por los microbiólogos. Niemelä (2003) menciona que la incertidumbre total consiste de varios componentes, y que, en microbiología, al menos tres factores están siempre involucrados: La incertidumbre del volumen del inóculo, la dispersión aleatoria debido a las partículas estáticas y la incertidumbre de lectura del resultado. Un cuarto factor viene a ser la incertidumbre de la dilución.

Regan *et al.* (2002) mencionan que hay dos categorías de incertidumbres en ecología: La incertidumbre epistémica y la incertidumbre lingüística; ellos mencionan que la primera es usada frecuentemente y están clasificadas por seis tipos principales: error de la medida, error sistemático, variación natural, aleatoriedad inherente, modelos de incertidumbre y juicio subjetivo. La incertidumbre lingüística se clasifica en cinco tipos: vaguedad, contexto de dependencia, ambigüedad, indeterminación de términos teóricos y subespecificidad, estos surgen del lenguaje natural y científico, pero no son tomados en cuenta en el campo de la ecología.

Pulido *et al.* (2003), publican un artículo acerca de los métodos que pueden usarse para calcular la incertidumbre en análisis cualitativos. Presentan 4 maneras de estimar la incertidumbre cualitativa: tablas de contingencias, el método de Bayes, intervalos estadísticos y curvas de rendimientos. Menciona además que la

incertidumbre de análisis cualitativos no puede ser expresados como un intervalo alrededor del valor predicho sino en base a la probabilidad.

Trullols *et al.* (2004) también mencionan en su publicación que el Teorema de Bayes y la Prueba de hipótesis estadística son usados para el cálculo de la incertidumbre cualitativa.

En el 2005, se publica la segunda edición de la Norma ISO/IEC 17025:2005 “Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración” esta norma estuvo vigente hasta el 2017. Su importancia radica en que el Instituto de la Calidad (INACAL) de nuestro país está alineado con estas normas internacionales y exige que los laboratorios microbiológicos y laboratorios hidrobiológicos estén acreditados, es decir cumplan con los requisitos de esta norma. Uno de los requisitos de la ISO es la estimación de la incertidumbre de la medición.

Haase *et al.* (2006), manifiestan que la incertidumbre es causada tanto por la variabilidad de la biota usada para evaluar la calidad de un río y el error humano introducido por el analista. En un experimento realizado con diatomeas, se demuestra que los protocolos de muestreo juegan un rol crucial en la evaluación de la calidad del agua usando diatomeas. La selección del sitio de muestreo, el tipo de sustrato y la identificación taxonómica contribuye en la mayor incertidumbre de las métricas resultantes de calidad del agua (Lototskaya *et al.*, 2006).

Por estos años también se afirma que el error en la identificación taxonómica es la aplicación de una nomenclatura incorrecta a un espécimen, este error taxonómico puede tener varias causas, incluyendo la incorrecta interpretación de la literatura técnica, definiciones aproximadas de terminologías, nomenclatura y procedimiento estándares, diferencias en el equipo óptico, el manejo de la muestra y preparación de las técnicas (Haase *et al.*, 2006; Stribling y Pavlik, 2008).

EURACHEM/CITAC publica en 2007 una 1era edición de la guía llamada “Guía para la estimación de la incertidumbre de la medición que surge del muestreo”. Ellos mencionan que a pesar de que ya existían procedimientos para estimar la incertidumbre que se origina en la porción analítica de la medida, debe además involucrarse la incertidumbre del muestreo, porque una medida involucra el proceso



de tomar la muestra. Cuando se desea analizar el “objetivo de muestreo” es imposible analizar el total, por ello se realiza un muestreo y las mediciones en sí están relacionadas con la acción de tomar la muestra; por lo tanto, si tenemos como objetivo estimar el valor de la concentración de un analítico en un objetivo de muestreo, entonces la incertidumbre asociada con el proceso de muestreo debe contribuir inevitablemente con la incertidumbre asociada con el resultado total. Hasta ese momento no había procedimientos para estimar la incertidumbre resultante. Esta guía describe varios métodos que pueden ser usados para estimar la incertidumbre de la medida que surgen del proceso del muestreo y la preparación física de la muestra. (EURACHEM/CITAC, 2007).

En el 2007, se publica un manual nórdico para estimar la incertidumbre del muestreo, el cual se basa en los principios, métodos y textos de la guía internacional EURACHEM 2007 “Guía para la estimación de la incertidumbre de la medición que surge del muestreo”. Uno de los propósitos de este manual es proporcionar un conjunto de herramientas para el cálculo y el control de la incertidumbre del muestreo; y de su procedimiento de muestreo para quienes trabajan en investigaciones, monitoreos y control, y que estas herramientas estén disponibles fuera del mundo de la química analítica (Grøn *et al.*, 2007).

En el 2007, se publica la “Guía para el recuento de fitoplancton por microscopia invertida (técnica de Utermohl)” en la Norma española 15207, la cual sugiere que la estimación de la abundancia o de la composición es de poco interés si se desconoce la incertidumbre, esta incluye el muestreo, almacenamiento, submuestreo, homogeneidad, identificación y cuantificación. Además, menciona que se debe hacer una clara distinción entre la incertidumbre cuantitativa y la incertidumbre cualitativa. Mencionan que la incertidumbre cualitativa se refiere a la identificación errónea y a la no identificación de los taxones. La incertidumbre cuantitativa, se calcula según la reproducibilidad interlaboratorios más la desviación respecto al valor verdadero, ellos estiman la incertidumbre relativa. Sugieren que es útil la guía de la EURACHEM/CITAC y GUM (UNE-EN 15204, 2007).

Pazos *et al.* (2008) publican un artículo donde realizan un ensayo de intercalibración interlaboratorio con muestras de agua de mar para determinar la relación entre la concentración celular de *Dinophysis* calculada por el método de



Utermöhl y su incertidumbre. En dicho estudio concluyen que la incertidumbre en los recuentos es dependiente de la concentración celular. La incertidumbre se calculó en base a la desviación estándar y la incertidumbre relativa fue expresada como un porcentaje en relación al valor promedio. Sugieren que deben realizarse experimentos para la intercalibración de identificaciones taxonómicas.

Más allá del diseño de estudio y los protocolos de muestreo para el monitoreo biológico, la razón o fundamento de cualquiera de estos indicadores es una descripción del contenido de la muestra, es decir, la identificación y enumeración de organismos en la muestra. Para muchos laboratorios que hacen o contribuyen al monitoreo biológico, las tasas de error taxonómico son desconocidas y así hubiese algún esfuerzo, estos son realizados de cualquier manera. Esta situación es el resultado de la confianza tradicional en la opinión de expertos y la falta de claridad con respecto a la necesidad y exactitud de dicha información (Stribling y Pavlik, 2008).

Por otro lado, en nuestro país IMARPE (2010) publica un procedimiento donde se menciona la realización del cálculo de incertidumbre relativa cuantitativa en base a la desviación estándar y también realiza el cálculo de la incertidumbre semicuantitativa en base a porcentajes de una correcta identificación de los taxones, sin embargo menciona que aun así es limitado este cálculo porque se carece de material de referencia, es de aclarar que en microbiología es posible tener un material de referencia por la variabilidad de conservación de las cepas por muchos años, esto no sucede con la mayoría de organismos fitoplanctónicos. En nuestro país este procedimiento surge como parte del Plan de alerta contra las floraciones de algas nocivas por lo que el resultado con su respectiva incertidumbre de estos organismos es importante. Ellos toman como referencia la UNE-EN 15024. 2007.

AQUAREF (2011) también menciona en uno de sus seminarios para el estudio de la incertidumbre en hidrobiología, que hay varios tipos de incertidumbre para ser tratados de diferentes maneras como la incertidumbre relacionada a la representatividad espacial y temporal, es decir del punto de vigilancia y la variabilidad del medio donde entra a tallar la definiciones de estaciones de red, representación de la masa de agua, frecuencia de medición (interestacional e

interanual) etc. en otras palabras las etapas de incertidumbre de la medida para hidrobiología debe darse: en la delimitación del sitio de muestreo, muestreo en sí, preparación de la muestra, determinación del recuento y validación taxonómica de la lista. Ellos en sus seminarios tratan diversos temas, como por ejemplo: la preocupación de determinar la incertidumbre por su importancia en la toma de decisiones, la necesidad de definir mejor el mensurando de los parámetros hidrobiológicos, sus incertidumbres proporcionadas y evaluar si es posible “reconciliar” la hidrobiología y la metrología (Lototskaya *et al.*, 2006; AQUAREF, 2012). Otro de los proyectos en el estudio de la incertidumbre en cuerpos acuáticos es WISER (Cuerpos de agua en Europa: sistemas integrativos para evaluar la recuperación y el estado ecológico) el cual es co-fundado por la Comisión europea dentro del séptimo programa de marco de trabajo.

En el 2012, AQUAREF menciona que hay muchos detalles marinos como la composición, abundancia del fitoplancton, flora acuática y la fauna bentónica de los invertebrados, pero esto no justifica un enfoque metrológico específico. De todas maneras, los estudios mencionados en estos seminarios involucran el estudio de la comparación de muestreos para diatomeas y de esta manera estimar una incertidumbre global, asimismo también hay resultados donde se evidencia que el análisis estadístico puede ser aplicado en la variedad y enumeración taxonómica (identificación).

Ahora bien, el tema de “validar” de alguna manera la lista taxonómica, ha sido de preocupación en varias investigaciones donde se realizan estudios de interlaboratorios quienes han planteado la necesidad de diseñar una estrategia para probar el conocimiento de los analistas para identificar correctamente el fitoplancton marino, en los cuales se utilizaron tasas de falso positivos y falso negativos como medida de la credibilidad de cuan bueno era el método para identificar la composición de la muestra, en estos casos se evaluó la competencia con exámenes subidos a una plataforma de una institución de la web, además de esto se calculó la sensibilidad y especificidad del método. Entonces como se observa, existe la necesidad de evaluar la parte cualitativa de la identificación taxonómica del analista (Salas, 2011)

En el 2012 se publica la tercera edición de la “Cuantificación de la incertidumbre en mediciones analíticas” de la EURACHEM/CITAC y adicionalmente proporciona una guía mejorada para la expresión de la incertidumbre cercana a cero, y nuevas guías para el uso de los métodos de Monte Carlo para la evaluación de la incertidumbre; a su vez, proporciona el uso de validación y datos relacionados con la construcción de estimaciones de incertidumbre en total conformidad con la GUIA ISO (GUM) y los requisitos de la ISO/IEC 17025:2005 (EURACHEM/CITAC, 2012).

En nuestro país, INACAL (2014), menciona que es necesario calcular la incertidumbre para ensayos químicos y microbiológicos, pero solo para métodos cuantitativos, sin embargo, no menciona nada en relación a los métodos hidrobiológicos.

En el 2017, se publica la tercera edición de la ISO/IEC 17025 “Requerimientos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración” donde se observa cambios considerables a evaluar con respecto a la segunda edición. La evaluación de la medida de la incertidumbre se encuentra en la cláusula 7.6, sin embargo, uno de los cambios importantes es que se debe identificar las contribuciones hacia la incertidumbre de la medición incluyendo aquellas derivadas del muestreo (Sub-cláusula 7.6.1).

La EURACHEM formó un nuevo grupo de trabajo para proporcionar orientación de la incertidumbre en el análisis y las pruebas cualitativas, cuyo objetivo es preparar orientación sobre la evaluación y expresión de incertidumbre en análisis y pruebas cualitativas, organizar la publicación y promoción apropiadas de la guía, lo cual está siendo realizado hasta la fecha con el Copyright establecido <https://www.eurachem.org/index.php/euwgs/wg-qa>, hasta el momento hay dos enfoques para estimar la incertidumbre cualitativa: los métodos bayesianos y las tablas de contingencia.

EL 2019, EURACHEM/CITAC publica una 2da edición de la guía para estimar la incertidumbre que surge del muestreo, donde incorpora, por ejemplo. actualizaciones de definiciones y referencias actuales incluyendo aplicaciones de estos métodos a mediciones *in situ* hechos en macro y micro escala.

## MARCO TEÓRICO

### 1. INCERTIDUMBRE CUANTITATIVA

#### 1.1. Concepto de incertidumbre de la medición

La incertidumbre cuantitativa de la medición involucra la incertidumbre del muestreo y la incertidumbre analítica, debemos tener claro el concepto de incertidumbre en una medición. Los siguientes párrafos son un resumen de Niemelä (2003), JCGM (2008), EURACHEM/CITAC (2012).

La incertidumbre es un parámetro asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que pueden razonablemente ser atribuidos al mensurando

Todo proceso analítico de un laboratorio tiene como objetivo medir, los laboratorios físicos miden longitudes, masa, volumen, etc.; los laboratorios químicos miden la concentración de un analito determinado, como, por ejemplo: cadmio, etc. incluso los laboratorios biológicos realizan medidas, como la concentración de coliformes totales, entonces como observamos se mide y se determina el valor de una magnitud específica, este valor se le llama resultado de la medición.

Si bien el objetivo de un laboratorio es medir, nos debemos preguntar qué se mide, entonces surge el término mensurando que viene a ser la cantidad particular sujeta a la medición, ejemplos de mensurando:

- Presión de vapor de una muestra de agua dada a 20 °C
- Concentración de mercurio en una muestra de sangre
- Concentración de coliformes totales en 100 mL de agua superficial

Ahora que sabemos que un resultado de un mensurando proviene de un proceso de medida, debemos entender qué es la incertidumbre, el cual es un término nuevo

en la metrología aplicado inicialmente en el campo físico, químico y en microbiología.

La palabra “incertidumbre” significa duda, y en su amplio sentido “incertidumbre de la medición” significa duda acerca de la validez del resultado de una medición. Pero en metrología la palabra incertidumbre no está relacionada a la duda en sí, sino que *la incertidumbre es un parámetro que caracteriza la dispersión de los valores que pueden ser razonablemente atribuidos al mensurando*, es decir que no hablamos de un único valor para un resultado, sino de un intervalo que tiene posibles valores verdaderos para un resultado, no se sabe cuál es el valor verdadero, pero se tiene la certeza de que en esos posibles valores está el valor verdadero, este intervalo son cantidades de medidas específicas obtenidas por ejemplo de la desviación estándar, RSD, etc.

Entonces, como se carece de palabras para diferenciar este *concepto general de incertidumbre* de las cantidades específicas que provienen de las medidas cuantitativas del *concepto (por ejemplo, la desviación estándar)* es necesario usar la palabra *incertidumbre* en estos dos diferentes sentidos.

La incertidumbre indica entonces el nivel de variabilidad que tienen las mediciones, no se trata de un error, no es una equivocación que resulta de la actividad de medir. El error es un resultado de una medida menos el valor verdadero del mensurando, es un valor único que no puede ser conocido con exactitud, es un valor idealizado (porque no se puede determinar el valor verdadero, en la práctica se utiliza un valor verdadero convencional). El valor de un error conocido puede ser aplicado como una corrección al resultado; en cambio, la incertidumbre toma la forma de rango o intervalo de variabilidad para un proceso de medición y tipo de muestra definida; y no puede ser usado para corregir un resultado de la medición. Por ejemplo: Si corregimos un resultado de un análisis puede ser, por casualidad, muy cercano al valor del mensurando y por lo tanto tiene un error insignificante. Sin embargo, la incertidumbre puede ser muy grande, simplemente porque el analista está muy inseguro de cuán cerca aquel resultado está al valor del mensurando.

Un completo proceso de medida se inicia con el muestreo primario y termina con la determinación analítica. Hay muchos pasos intermedios, tales como el transporte y

preservación de las muestras, no todos los pasos se presentan siempre. Cada paso contribuye con la incertidumbre de la medición (Grøn *et al.*, 2007) Figura 1.

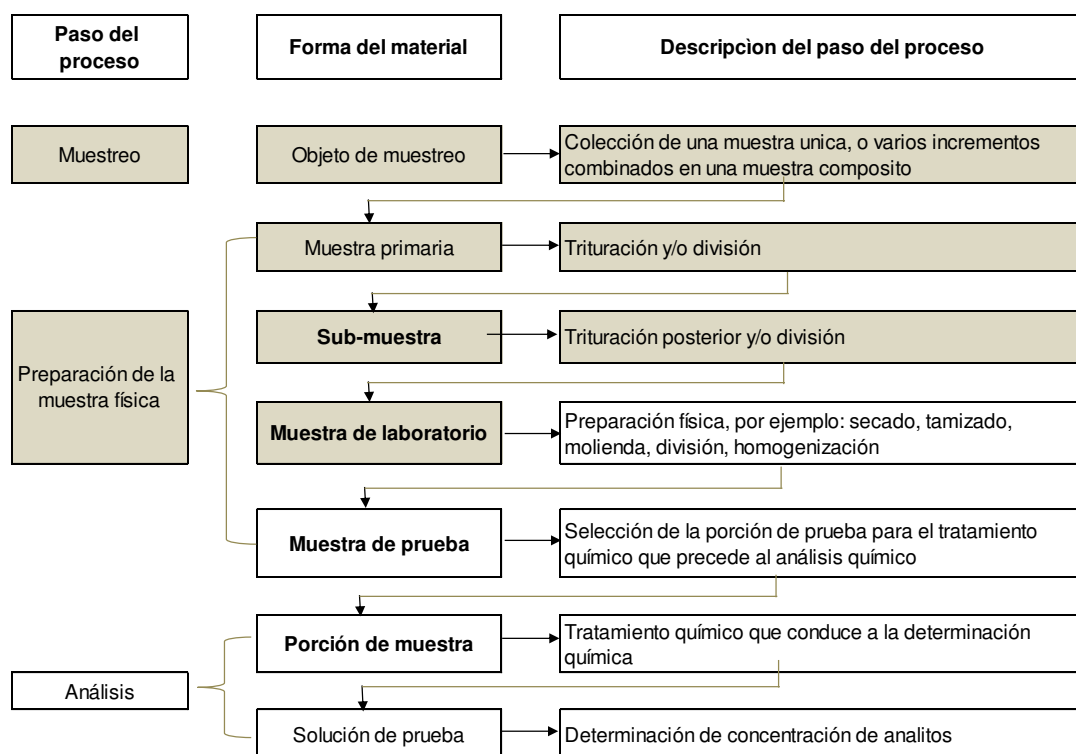


Figura 1. Diagrama esquemático de un típico proceso de medición incluyendo el muestreo, preparación física de la muestra (incluyendo transporte) y análisis. Fuente: Traducido de Grøn *et al.*, 2007

El principal propósito de la mayoría de las mediciones es permitir la toma de decisiones. La credibilidad de estas decisiones depende del conocimiento acerca de la incertidumbre de los resultados de las mediciones. La incertidumbre en la medición puede ser definida como compuesta de dos componentes: 1) incertidumbre derivada del muestreo de una matriz y usando aquellas muestras para representar la masa muestreada total y 2) la incertidumbre derivada del proceso analítico.

Si la incertidumbre de la medida se subestima por ejemplo debido a que el muestreo no es tomado en cuenta, entonces las decisiones erróneas pueden tener grandes consecuencias financieras, de salud y ambiental. Por eso es esencial que estén

disponibles procedimientos efectivos para la estimación de incertidumbre que surgen de todas las partes del proceso de medición. Esto puede incluir incertidumbre que se derivan de cualquier muestreo importante y la preparación física, asimismo como la variabilidad de la heterogeneidad de la muestra.

Las fuentes típicas de incertidumbre que podemos encontrar en el objetivo de muestreo son:

Muestreo, efectos tales como variaciones aleatorias entre diferentes muestras y cualquier potencial desviación en el procedimiento de muestreo forman componentes de incertidumbre que afectan el resultado final.

Condiciones de almacenamiento, el material que se almacena por algún periodo antes del análisis, las condiciones de almacenamiento pueden afectar los resultados. La duración del almacenamiento, así como las condiciones durante el almacenaje deberían ser consideradas fuentes de incertidumbre.

Efectos de instrumentos, como, por ejemplo, los límites de precisión en la calibración de una balanza analítica; un controlador de temperatura que puede mantener una temperatura promedio que difiere (dentro de la especificación) de su punto de ajuste indicado.

Pureza de un reactivo, la concentración de una solución volumétrica no será conocida exactamente incluso si el material original ha sido analizado, debido a que persiste alguna incertidumbre relacionada al procedimiento de ensayo. Por ejemplo: algunos colorantes orgánicos no son 100% puros, cualquier suposición sobre el grado de pureza será introducida como una fuente de incertidumbre.

Condiciones de medición, por ejemplo, el material volumétrico puede ser usado a temperatura ambiente diferentes a la que fue calibrada, entonces se debe considerar la fuente de incertidumbre en la temperatura.

Efectos de la muestra, la recuperación de un analito de una matriz compleja, o la respuesta de un instrumento puede ser afectado por la composición de la matriz.

Efectos computacionales, el redondeo o truncamiento puede llevar a inexactitudes en el resultado final.

Efectos del operador, por ejemplo, interpretar ligeramente diferente el método.

## 1.2. Estimación de la incertidumbre del muestreo.

Para realizar el cálculo de la incertidumbre de muestreo, primero debemos escoger un diseño de muestreo, este se basa en la replicación del procedimiento de medición o partes del mismo dividiendo las muestras (diseño de réplicas, Figura 2) o replicando el procedimiento de medida en el tiempo o espacio (Variogramas). En este estudio se aplicó el diseño de réplicas que se explica a continuación (Grøn *et al.*, 2007; EURACHEM/CITAC, 2007).

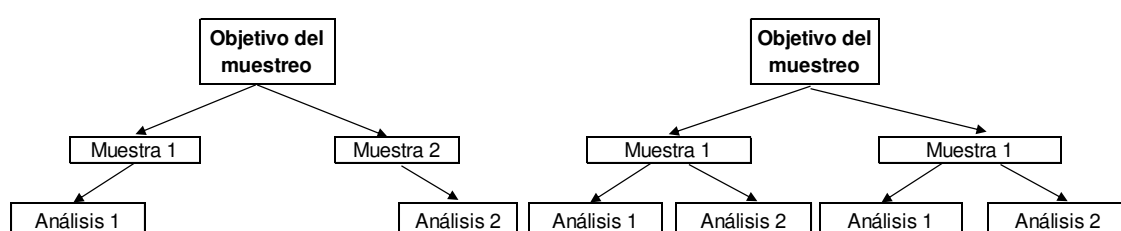


Figura 2. Los principios del diseño de réplica con uno (izquierda) y dos (derecha) niveles de divisiones. Fuente: Traducido de Grøn *et al.*, 2007

La base principal de este diseño de réplicas es aplicar el mismo procedimiento de muestreo dos o más veces en el mismo objetivo o en diferentes objetivos para estimar la medida del error aleatorio. La replicación puede ser hecha en un paso, como por ejemplo el muestreo, pero puede también ser hecho en otros pasos críticos donde la información de la incertidumbre es requerida, como por ejemplo: el análisis de la preparación de la muestra

Las contribuciones a la incertidumbre del muestreo pueden ser la preparación física de la muestra, el transporte, el almacenamiento de la muestra, etc. Y este diseño puede ser adaptado o extendido para proveer información en estas contribuciones.

La incertidumbre del muestreo se estima por la desviación estándar. La desviación estándar de la medida,  $S_{\text{medición}}$  está dada por la siguiente ecuación:

$$S_{\text{Medición}}^2 = S_{\text{Muestreo}}^2 + S_{\text{Análisis}}^2$$

Entonces despejando la incertidumbre del muestreo es:



$$S_{\text{Muestreo}} = \sqrt{S_{\text{Medición}}^2 - S_{\text{Análisis}}^2}$$

Para calcular la desviación estándar podemos usar herramientas estadísticas como los rangos estadísticos (para diseño de una única división o doble división), también se puede usar el ANOVA para diseños de réplica dividida. La selección del método más apropiado para los cálculos estadísticos dependerá de un rango de factores tales como: La competencia estadística de la persona, complejidad del diseño detrás de la data y el acceso a herramientas de cálculo.

### **1.3. Estimación de la incertidumbre analítica.**

La incertidumbre se puede determinar por medio de un parámetro, este parámetro puede ser la desviación estándar, RSD (desviación estándar relativa), etc. Existen varias maneras de estimar la incertidumbre, en el presente estudio se trabajó según Niemelä (2003), JCGM (2008), EURACHEN/CITAC (2012). A continuación, se explica el proceso de estimación de la incertidumbre de la medición de acuerdo a los siguientes pasos:

#### **PASO 1. Especificar el mensurando.**

Se debe escribir una oración clara de lo que se está midiendo, incluyendo la relación entre el mensurando y otros parámetros o constantes de los cuales depende y que no son directamente medidos, por ejemplo:

- Concentración de mercurio en muestras de agua superficial
- Área de una placa rectangular de acero medido a 25 °C
- Concentración de fitoplancton de la zona superficial (0-30 cm) de la laguna La Viuda.

En los ejemplos declaramos el tipo de magnitud que se va a medir: concentración de mercurio, área de una placa rectangular, concentración de fitoplancton, se declara también el objeto o material que se va a analizar, en los ejemplos serían agua superficial, placa rectangular de acero, zona superficial (0-30 cm) de la laguna La Viuda, asimismo hay parámetros dependientes del método, en el segundo ejemplo sería 25 °C.

## **PASO 2. Identificar las fuentes de incertidumbre.**

Listar las posibles fuentes de incertidumbre. Incluirá las fuentes que contribuyen a la incertidumbre sobre los parámetros en las relaciones especificadas en el PASO 1. También puede incluir otras fuentes. Este paso solo es un listado, el objetivo es tener claro que se va a considerar como fuentes de incertidumbres.

Una manera de listar las fuentes de incertidumbre es comenzar con la expresión básica utilizada para calcular el mensurando. Es decir, esta expresión básica sería el modelo matemático utilizado (fórmula). Todos los parámetros en esta fórmula pueden tener una incertidumbre asociada con su valor y son fuentes potenciales de incertidumbre. Además, puede haber otros parámetros que no aparecen explícitamente en la formula pero que sin embargo afecta los resultados de la medición.

Entonces, debemos primero escribir la formula completa, se deben observar cuales son los parámetros de la ecuación, por ejemplo: en este estudio se empleó la fórmula de Lackey (1938) y los parámetros de la ecuación son: concentración, área, volumen.

$$\frac{No}{mL} = \frac{Cx A_t}{A_s x S x V}$$

Luego, estos son ubicados como ramas principales en un diagrama de causa-efecto (conocido como Ishikawa o diagrama “espina de pescado”) (Bauer *et al.*, 2006). Cada rama principal puede añadir más fuentes de incertidumbre (ramas más pequeñas) hasta que su efecto sobre el resultado sea insignificante (Figura 3).

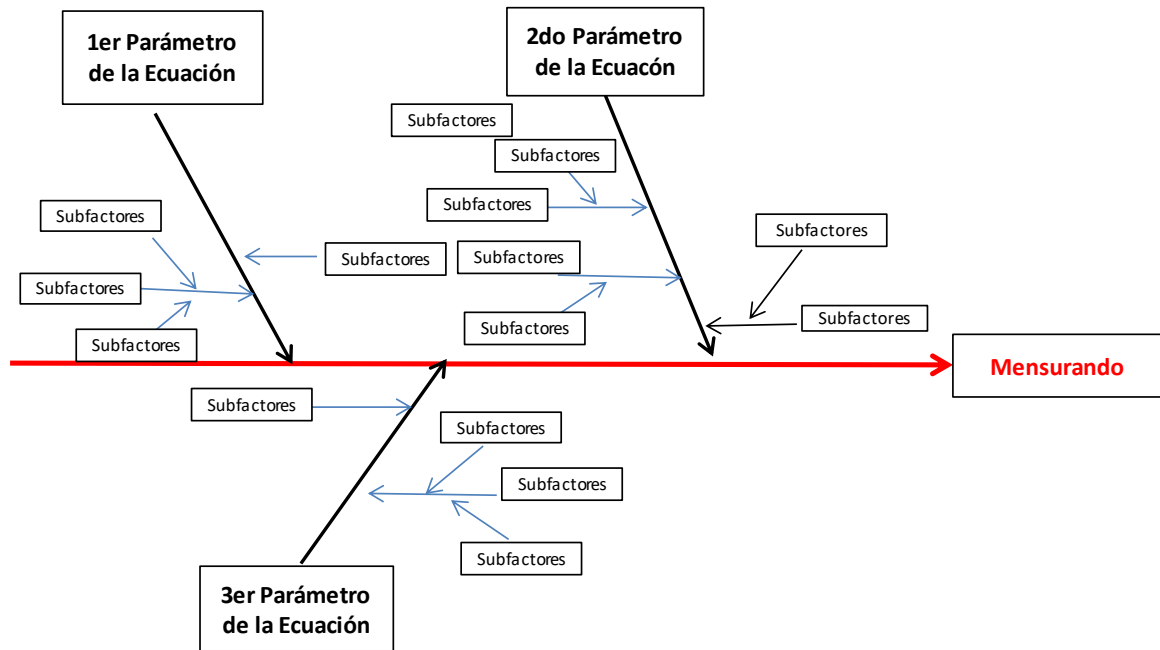


Figura 3. Diagrama de Ishikawa o diagrama “espina de pescado”, la línea roja señala al mensurando, las líneas negras son los principales parámetros de la ecuación matemática y las líneas celestes son otras fuentes de incertidumbres asociadas a estos parámetros.

Por ejemplo, mediante una “lluvia de ideas” nos preguntamos qué fuentes de incertidumbres afectan el primer parámetro (área), y podemos considerar el área de conteo, el cubreobjeto, la calibración, etc. En el segundo parámetro (conteo) podemos considerar los analistas, lectura de conteo, distribución del organismo, matriz, objetivo del muestreo, etc. como fuentes de incertidumbres y así podemos seguir haciendo un listado con el otro parámetro.

### **PASO 3. Cuantificar la incertidumbre las fuentes o componentes individuales.**

Habiendo identificado las fuentes de incertidumbre en el PASO 2, el próximo paso es cuantificar la incertidumbre que surgen de estas fuentes, esto puede ser realizado evaluando las incertidumbres que surgen de cada fuente individual y luego combinarlas, a esto se le llama “Ley de propagación de incertidumbre”

Las fuentes o componentes individuales de la incertidumbre se pueden determinar de acuerdo a dos métodos, el método tipo A y el tipo B que se describe a continuación:

- Estimación experimental de contribuciones individuales a la incertidumbre (incertidumbre tipo A), esta estimación procede de estudios experimentales específicos para parámetros individuales, la incertidumbre estándar se mide a partir de la repetibilidad de los experimentos, la incertidumbre estándar es cuantificada a partir de la desviación estándar de los datos. Por ejemplo:
  - ✓ Medir 20 veces el peso de un volumen de 1 ml de agua destilada en una balanza analítica, de este estudio de repetibilidad experimental podemos calcular la media, la desviación estándar de la muestra y la desviación estándar de la media, este último vendría a ser la incertidumbre estándar.
  - ✓ Contar por duplicado el número de organismo fitoplanctónico de interés de  $n$  muestras, a partir de esto se puede calcular el  $w_z^2$
  - ✓ Contar el número de organismo de interés en 30 campos, a partir de estos se puede calcular la desviación estándar y el RSD.
- A partir de datos disponibles (Incertidumbre Tipo B), esta estimación proviene de información relevante disponible. Algunas fuentes de información son: certificados de calibración, catálogos de los proveedores (ejemplo: tolerancia de los objetos volumétricos de vidrio obtenido mediante el catálogo del fabricante), esta información debe ser convertida a una incertidumbre estándar y se debe asumir una distribución de probabilidad como: distribución normal, distribución rectangular, distribución triangular.

Por ejemplo, en el método de Lackey se utilizó una micropipeta para colocar la gota en una lámina portaobjeto, podríamos calcular el RSD del volumen si pesamos 30 gotas en una balanza analítica (esto sería Tipo A); sin embargo, otra manera de estimar la incertidumbre es buscar información del folleto de especificación técnica de la micropipeta (valores de inexactitud, imprecisión, etc.) y calcular el RSD.

Mencionado todo esto, por ejemplo, en microbiología, al menos cuatro factores están siempre involucrados, estos componentes fueron obtenidos como se indicó en el PASO 1, 2 y 3 y la estimación de la incertidumbre de estos componentes individuales se determinan por el método de tipo A.

- La incertidumbre del volumen del inóculo,
- La incertidumbre de la dispersión aleatoria debido a las partículas estáticas
- La incertidumbre de lectura del resultado,
- La incertidumbre de dilución

En el caso de fitoplancton podemos estimar los tres primeros componentes excepto el último, porque en este estudio la muestra no ha sido diluida sino concentrada.

#### **PASO 4. Calcular la incertidumbre combinada**

Antes de la combinación, todas las fuentes o contribuciones de la incertidumbre deben ser expresadas como incertidumbre estándar  $u(x_i)$ , es decir, como desviación estándar o como incertidumbre estándar relativa si fuera calculada en base al RSD, esto puede implicar la conversión de alguna otra medida de dispersión. Luego se estima la incertidumbre estándar combinada  $u_c(y)$  o  $w_y$ , usando la ley de propagación de incertidumbre.

Por ejemplo, en este estudio, todas las incertidumbres estándares fueron calculadas en base al RSD, el cual es una medida de dispersión relativa, por ello tendremos una incertidumbre estándar relativa.

La etapa final es multiplicar la incertidumbre estándar combinada por el factor de cobertura ( $k$ ) escogido para obtener una incertidumbre expandida  $U$ . Con la incertidumbre expandida se proporciona un intervalo que comprende una distribución de valores que pueden ser atribuidos razonablemente al mensurando. Esto es aplicable si la distribución del analito sigue una distribución normal, si el analito sigue otra distribución se debe realizar el cálculo del intervalo mediante otras fórmulas.

## Reporte de la incertidumbre

La incertidumbre se reporta como  $X \pm U$ , donde  $X$  es el resultado y  $U$  es la incertidumbre expandida.

## 2. INCERTIDUMBRE CUALITATIVA

En los párrafos anteriores se explicó el concepto de la incertidumbre cuantitativa, el cual involucra la incertidumbre de muestreo y la incertidumbre analítica (de laboratorio). En los conteos biológicos juega un papel importante la identificación taxonómica, el reconocimiento de una colonia típica, observación de su comportamiento bioquímico típico en base a presencia o ausencia, etc., pero estas evaluaciones son variables cualitativas, y una incertidumbre cuantitativa no puede ser aplicada en estos casos para este tipo de variables entonces debe calcularse la incertidumbre cualitativa (Pulido *et al.* 2003). Actualmente a los ensayos cualitativos se les realiza pruebas de desempeño en las validaciones metodológicas como la especificidad, sensibilidad, límite de detección, robustez dependiendo de la naturaleza del método; sin embargo, hay otros parámetros que son propios de los métodos cuantitativos que no se pueden aplicar (Resolución N° 0008-2003/INDECOPI-CRT). EURACHEM el cual es un grupo de organizaciones europeas tiene el objetivo de establecer un sistema de trazabilidad internacional de mediciones químicas, nuestra entidad máxima en el tema de calidad y competencia, el INACAL toma las guías EURACHEM como referencias para la calidad química, sin embargo el mismo EURACHEM hasta la fecha está discutiendo y organizando grupos de trabajo para discutir la incertidumbre cualitativa, mencionan dos enfoques hasta el momento para la incertidumbre cualitativa: los métodos bayesianos y el uso de las tablas de contingencias (Kostakis y Thomaidis, 2017; Bettencourt R. 2017)

A continuación, se menciona la diferencia entre los conceptos de incertidumbre cualitativa y cuantitativa:

- La incertidumbre cuantitativa se expresa como un intervalo alrededor del resultado, es decir es un parámetro que caracteriza la dispersión de los resultados.

- La incertidumbre cualitativa por el contrario se expresa como una probabilidad de tomar la decisión equivocada.

Hay varias formas de estimar la incertidumbre cualitativa como tablas de contingencia y el teorema de Bayes; sin embargo, en este trabajo se procedió a realizar ese cálculo usando el teorema de Bayes.

Para estimar la Incertidumbre cualitativa (usando el teorema de Bayes) debemos conocer conceptos básicos de probabilidades, a continuación, se definen el concepto de probabilidad, probabilidad condicional, regla de la cadena de la probabilidad, Teorema de la probabilidad total y el Teorema de Bayes (Bertsekas y Tsitsiklis, 2008; Movellan, 2008; Seier y Joplin, 2011; Caiza, 2015).

## **Probabilidad**

La probabilidad es una rama de las matemáticas que trata con la aleatoriedad. El desarrollo de la probabilidad se dio en el análisis de los juegos de azar. La probabilidad puede ser estudiada en diferentes niveles y tiene un amplio rango de aplicaciones en la ciencia, particularmente en la genética. Con frecuencia la pregunta: ¿cuál es la probabilidad de...? Es usada en el sentido de “¿cuán probable es que esto suceda? Para responder esta pregunta es muy importante que el contexto del problema sea claramente identificado y que:

- Todos los posibles resultados sean considerados.
- La posibilidad de que cada resultado sea representado por un numero entre 0 y 1 y que la suma de estos números sea 1.

Por ejemplo: cuando plantamos una semilla, hay dos posibles resultados: que la semilla germine (denotado por  $p$ ) y que la semilla no germine (denotado por  $1-p$ ). Deseamos conocer cuál es la probabilidad de que la semilla germine, entonces decimos que el espacio muestral que viene a ser todos los posibles resultados de un experimento aleatorio, en nuestro ejemplo el espacio muestral es el conjunto de los dos resultados posibles y nuestro evento, que es el subconjunto del espacio muestral será el resultado de que la semilla germine.

$$\text{Espacio muestral} = \{\text{semilla germinada}, \text{semilla no germinada}\}$$

$$\text{Evento} = \{\text{semilla germinada}\}$$

La probabilidad es la proporción de los resultados de ese espacio muestral que están en ese evento (Anexo 1), entonces:

$$\text{Probabilidad} = \frac{\text{Resultado del evento}}{\text{Resultados del espacio muestral}}$$

### **Probabilidad condicional**

Es aquella en la que un evento B puede cambiar o modificar la probabilidad de un evento A (Anexo 1). La probabilidad condicional es fácil de calcular y también es útil en la evaluación de la decisión o diagnóstico.

### **La regla de la cadena de la probabilidad.**

Permite calcular la probabilidad de la intersección de dos o más eventos del total de colección de eventos (Anexo 1).

### **Diagrama de árbol.**

Es un diagrama que contiene ramas y en cada una de estas se sitúa la probabilidad que le corresponde al suceso del final de dicha rama., las probabilidades que se colocan en el árbol son probabilidades condicionadas, porque dependen de los resultados anteriores (Anexo 1).

### **Teorema de la probabilidad total.**

Es un teorema que nos permite calcular la probabilidad de un suceso B del cual se conocen sus probabilidades condicionales con respecto a un suceso A. La probabilidad del suceso B se le conoce como la probabilidad total (Anexo 1).

### **Teorema de Bayes.**

La regla de Bayes es usada para calcular la probabilidad condicional reversa y es un teorema que fue propuesto por Thomas Bayes en el siglo XVIII. Surge como consecuencia del teorema de la probabilidad total y de las propiedades de la



probabilidad condicionada. Según Pulido *et al* (2003) este teorema es usado para calcular la incertidumbre cualitativa. El teorema de Bayes es el método más antiguo disponible para expresar y actualizar las probabilidades cuando se trata de estructuras dicotómicas (por ejemplo; si/no, presencia/ausencia, éxitos/fracaso) y es un candidato natural para la aplicación de análisis cualitativo. Este teorema es más robusto para medir la incertidumbre que las probabilidades puras, tales como aquellas en tablas de contingencia.

Debemos tener en claro las diferencias entre los conceptos antes mencionados:

- Si nosotros recibimos información de una probabilidad de un evento A, este es representado por  $P(A)$ ,
- Si nosotros recibimos información de una probabilidad condicional para un evento B este es representado por  $P(B/A)$ , probabilidad B dado A.
- Si nosotros recibimos información de una probabilidad A dado que sucede B, entonces este será representado por  $P(A/B)$ , este es conocido como el teorema de Bayes. La probabilidad  $P(A)$  es llamada probabilidad previa. La probabilidad  $P(A/B)$  es llamada probabilidad posterior.

El teorema de Bayes relaciona las probabilidades condicionales de la forma  $P(A/B)$  con las probabilidades condiciones de la forma  $P(B/A)$  en el cual se invierte el orden de condicionamiento (Anexo 1).

Para calcular la incertidumbre cualitativa se deben conocer que variables intervienen en una clave taxonómica para dar un resultado final (nivel de identificación), que puede ser la División, clase, género, etc, en este trabajo solo se evaluó División y género.

### **3. Estimación de la incertidumbre cualitativa**

El analista además de realizar el conteo de un organismo determinado debe identificarlo, para ello se utiliza una clave taxonómica para un nivel de identificación, Las claves taxonómicas son esquemas o modelos que están constituidas por caracteres excluyentes y relacionados de tal modo que al elegir uno de ellos se transita por las distintas series de opciones hasta lograr determinar el ejemplar en

cuestión (Vilches *et al.*, 2012). Las claves taxonómicas han sido usadas desde varias centenas de años, hay dos tipos básico: las claves de acceso único y las de acceso múltiple. El primero, se caracteriza por la secuencia y estructura de pasos de identificación que son fijadas por el autor de la clave. Si la clave consiste exactamente de dos elecciones en cada punto de ramificación, se les llama dicotómico, y si hay más de dos elecciones se le llama politómico. El origen de las claves de acceso único y otras claves se originan probablemente en el eterno diagrama de árbol o decisión de árbol usado en investigaciones de operaciones para identificar una estrategia más probable para alcanzar una meta, una herramienta de soporte de decisiones que usa un gráfico en forma de árbol de decisiones y sus posibles consecuencias incluyendo la posibilidad, resultados de eventos, costos de fuentes y utilidad (Ogunkunle, 2014).

Al mismo tiempo, la realización de experimentos para la intercalibración de las identificaciones taxonómicas está siendo necesario (Pulido *et al.*, 2003; Pazos *et al.*, 2008). Por ello, la clave taxonómica para el nivel de identificación a la cual se le calculará la incertidumbre cualitativa según el teorema de Bayes debe ser plasmada en un gráfico de flujo o diagrama de árbol según los siguientes pasos:

**Paso 1.** Elección de la clave taxonómica. Escoger la clave para identificar organismos hasta un nivel determinado al que evaluaremos (ver ejemplo en la Tabla 1)

Tabla 1. Clave taxonómica para identificar especies de *Geranium*. Adaptado de Osborne, 1962.

Clave de identificación a nivel de especie para <i>Geranium</i>		
Representación numérica	Rasgos característicos	Especies
1	Hojas con lóbulos anchos	<i>G. molle</i>
1	Hojas con lóbulos estrechos	2
2	Uña(*) larga	<i>G. pusillum</i>
3	Uña muy corta	<i>G. dissectum</i>

(\*) La palabra uña es una posible traducción de la palabra en ingles *claw* y está relacionado al pétalo según el autor mencionado

**Paso 2. Graficar el diagrama de árbol.** La clave taxonómica anterior es plasmada en un diagrama de árbol (Figura 4).

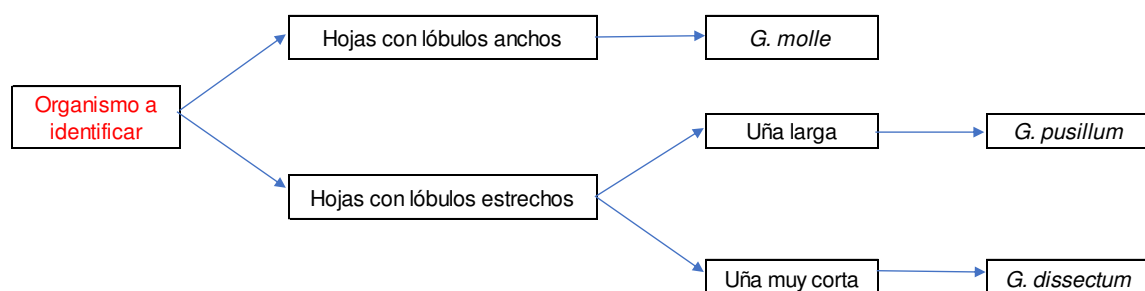


Figura 4. Diagrama de árbol para una clave taxonómica a nivel de especies para *Geranium*. Se selecciona de un organismo a identificar y en base a la observación se elige paso a paso los rasgos característicos que posee hasta dar con la especie. Adaptado de Osborne, 1962.

**Paso 3. Identificación de los organismos y obtención de data:** Escogemos un número de repeticiones para evaluar la identificación taxonómica, un  $n=30$  es óptimo para experimentos aleatorios. Continuando con el ejemplo de *Geranium*, seleccionamos, por ejemplo: 10 especies de *G. molle*, 10 especies de *G. Pusillum* y 10 especies de *G. dissectum*. Le asignamos un código a cada planta, los mezclamos y se le da al analista para que los identifique siguiendo la clave taxonómica de identificación de la Tabla 1. Él irá colocando un *check list* en un formato que contiene los pasos de la clave taxonómica hasta colocar el nombre científico de la especie de *Geranium* que identificó para cada una de las 30 plantas.

Del *chek list* se obtiene cuantas especies se han identificado correctamente y cuantas no, esto se hace por especie a evaluar. En la Figura 5 se observa que de las 10 plantas que son verdaderamente *G. molle*, solo 8 han sido identificados correctamente por el analista, esta gráfica puede ser realizada en plantilla Excell.

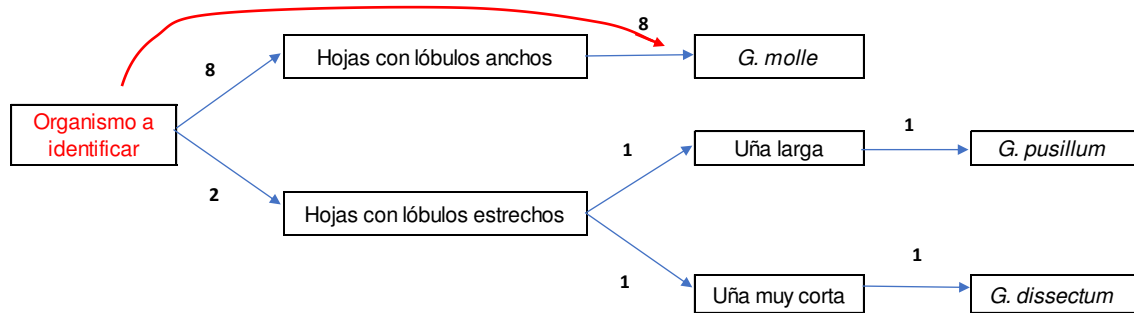


Figura 5. Diagrama de árbol para una clave taxonómica a nivel de especies para *Geranium*. Los números indican el número de organismos que siguieron esta vía de identificación, la línea roja indica la vía para identificar *G. molle*. Adaptado de Osborne, 1962.

**Paso 4. Cálculo de la incertidumbre cualitativa usando el teorema de Bayes.** Para usar esta fórmula se debe calcular primero las siguientes probabilidades y así poder luego insertarlo en la formula del teorema, entonces vamos a codificar las características de identificación para un mejor manejo del cálculo (Osborne, 1962)

Figura 6:

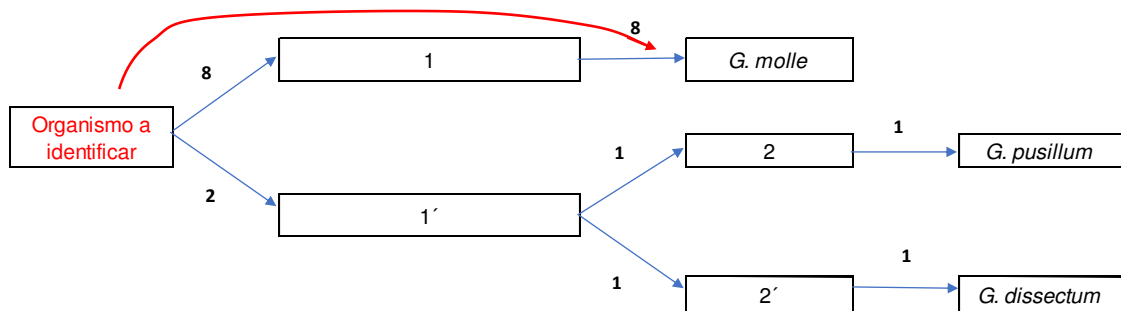


Figura 6. Diagrama de árbol para una clave taxonómica a nivel de especies para *Geranium*. Las características de cada paso de identificación fueron codificadas por un número (1, 1', 2, 2') que están dentro del cuadro, los números encima de las flechas son el número de organismos que siguieron esa ruta de identificación. Adaptado de Osborne, 1962.

a) Probabilidad de identificar *G. molle*:

$$P(1)$$

$$P(1) = P\left(\frac{8}{10}\right)$$

$$P(1) = 0.80$$

Entonces la probabilidad de identificar *G. molle* habiendo seguido esta clave taxonómica es 0.80

En caso de usar más variables se usa la regla de cadenas de probabilidades.

b) Probabilidad de no identificar *G. molle*:

$$P(E) - P(1) = 1 - 0.80 = 0.20$$

Donde  $P(E)$  es la probabilidad del espacio muestral (igual a 1).

c) Teorema de Bayes: Entonces en base a los cálculos anteriores llenamos las probabilidades que requiere el Teorema de Bayes (Figura 7):

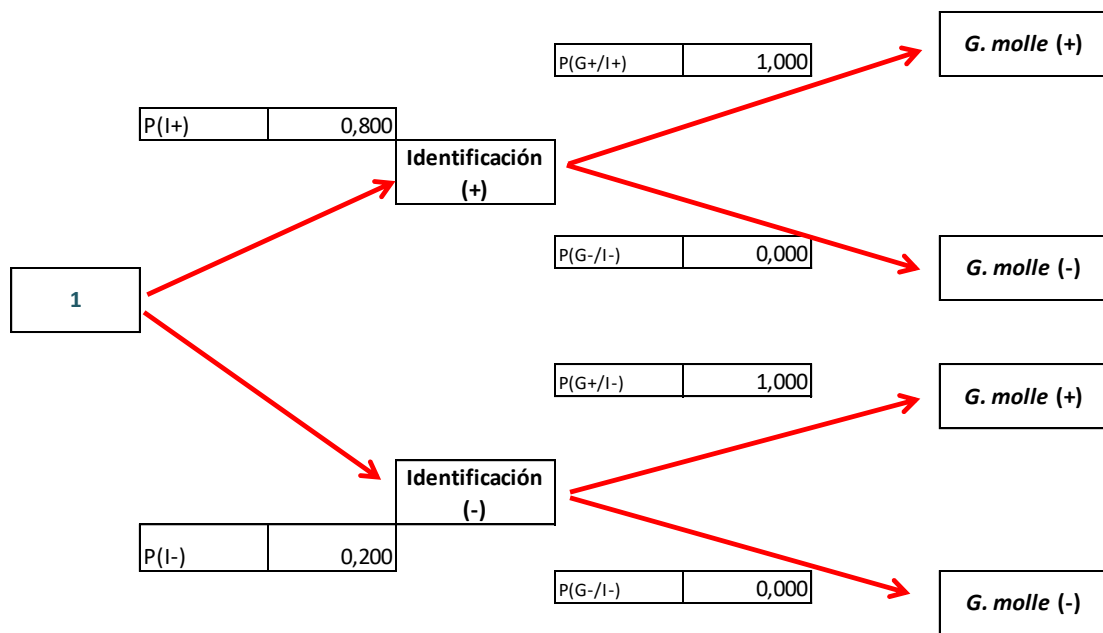


Figura 7. Diagrama de árbol para el cálculo del teorema de Bayes en el cual se pretende calcular la probabilidad de identificar *G. molle* dado que *G. molle* está presente  $P(I+/G+)$ .

Aplicamos la formula del teorema de Bayes (anexo 1) y la incertidumbre de haber identificado a *G. molle* por parte del analista fue de 0.80 (Tabla 2).

Tabla 2. Probabilidades obtenidas a partir del teorema de Bayes para la identificación de *G. molle*.

<b>Cálculo del Teorema de Bayes para la identificación de <i>G. molle</i></b>		
Probabilidad de haber identificado a <i>G. molle</i> dado que <i>G. molle</i> estaba presente	$P(I+/G+)$	<b>0,800</b>
Probabilidad de no haber identificado a <i>G. molle</i> dado que <i>G. molle</i> estaba presente	$P(I-/G+)$	<b>0,200</b>

**HIPOTESIS:**

Existe una incertidumbre estimable asociada al recuento del fitoplancton obtenido de la laguna La Viuda, Lima-Perú.

**OBJETIVOS:****Objetivo General:**

- Estimar la incertidumbre asociada al recuento del fitoplancton obtenido de la laguna La Viuda, Lima-Perú.

**Objetivos específicos:**

- Identificación y evaluación del fitoplancton de la laguna La Viuda, Lima-Perú.
- Estimación de la incertidumbre cualitativa del recuento del fitoplancton obtenido de la laguna La Viuda, Lima-Perú.
- Estimación de la incertidumbre cuantitativa asociada al recuento del fitoplancton obtenido de la laguna La Viuda, Lima-Perú.



## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Área de estudio:

El estudio se realizó en la laguna La Viuda, conocida también como Verde Cocha, ubicada en la latitud 11°21'27.85"S y longitud 76°26'23.41"O a una altura aproximada de 4500 metros sobre el nivel del mar, localizada en la provincia de Canta-Departamento de Lima. Según Google Earth, esta laguna tiene un largo de 522.57 m y un ancho de 178.42 m aprox. Un perímetro de 1390.73 m y un área de 103 191.02 m<sup>2</sup>. Esta laguna está ubicada en la cordillera La Viuda. La unidad litoestratigráfica de esta zona está compuesta de calizas y que pertenecen a la eratema mesozoica, sistema cretáceo y serie superior (INGEMMET, 2017). Se observó que la laguna La Viuda, está rodeada en la parte Oeste por la carretera (ruta PE-20A) y por el Este una pendiente de montaña, la vegetación circundante está constituida principalmente por poaceas y la zona litoral es mayormente pedregosa, evidenciándose en algunas zonas litorales heces de ganado y en la última etapa del estudio se observó la presencia de una piscigranja, sus aguas son transparentes y presentan movimiento debido al viento.

### 2. Diseño de muestreo:

Se realizó la primera evaluación biológica de la Laguna La Viuda en el mes de agosto (invierno) del 2016, en tres estaciones de muestreo: E-01 y E-02 ubicadas en la zona litoral del cuerpo de agua y E-03 en la zona limnética, con el fin de evaluar y comparar el fitoplancton de la zona litoral con respecto al centro.

La segunda evaluación se realizó en el mes de noviembre (primavera) 2016, donde se establecieron 7 estaciones de muestreo: E-01, E-02, E-04, E-05, E-06, E-07 y E-08, el punto E-03 no fue considerado debido a que no se encontró el bote disponible y fue imposible acceder al centro. La toma de muestra para calidad del agua fue realizada en los puntos E-01, E-02 y E-08. La finalidad de este muestreo fue evaluar y comparar el fitoplancton de la zona litoral de acuerdo a la morfología del litoral y vegetación circundante, otra razón para escoger las estaciones fue la accesibilidad de zona litoral de la laguna, debido a que hubo zonas muy empinadas (Tabla 3)

La ubicación espacial mediante coordenadas UTM de las estaciones de muestreo está representada en la Figura 8 y Tabla 3, se utilizó un GPS portátil (Etrex 10 Garmin) para determinar estas coordenadas en UTM.

Tabla 3. Ubicación espacial de las estaciones de muestreo (UTM) para el mes de agosto y noviembre del 2016 de la laguna La Viuda.

Estaciones	Coordenadas UTM		Características físicas de las estaciones de muestreo
E-01	N	8744282	Litoral con abundante sedimento arenoso
	E	342847	
E-02	N	8743959	Sin litoral, pendiente rocosa vertical abrupto
	E	342955	
E-03	N	8744073	Zona limnética
	E	342878	
E-04	N	8744306	Litoral con piedras pequeñas, vegetación de Poaceae.
	E	343029	
E-05	N	8744234	Litoral pedregoso con pendiente elevada y Poaceae, presencia de musgos acuáticos.
	E	343073	
E-06	N	8744077	Litoral pedregoso con pendiente elevada y vegetación abundante de Poaceae.
	E	342992	
E-07	N	8743845	Litoral pedregoso, vegetación sumergida
	E	342922	
E-08	N	8743853	Litoral pedregoso sin vegetación, presencia de lodo.
	E	342749	

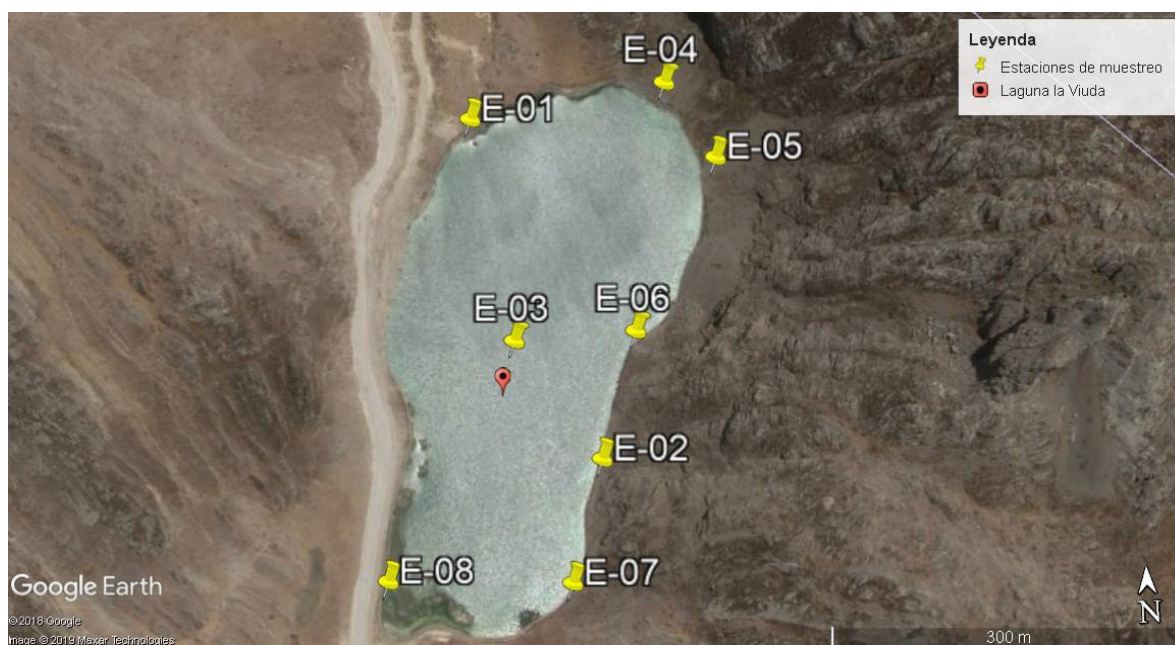


Figura 8. Estaciones de muestreo para la evaluación preliminar del fitoplancton de la laguna La Viuda (4500msnm) en los meses de agosto y noviembre del 2016. Fuente: Google Earth.

Después de haber evaluado qué organismos fitoplanctónicos estaban presentes en las estaciones de muestreo en el mes de agosto y noviembre del 2016; cuál era su abundancia en los diferentes puntos litorales y su relación con el punto central de la laguna, se procedió a realizar el estudio de la variabilidad estacional en el año 2017 en los meses de abril, julio, octubre, para lo cual se realizaron los muestreos mediante un diseño estadístico: muestreo estratificado no aleatorio, esto consistió en hacer tres estratos: estrato superior (Líneas rojas), estrato medio (Línea verde) y estrato inferior (línea amarilla); el estrato superior fue escogido por su orientación al norte, mientras que el estrato inferior se escogió por su orientación sur, cada estrato fue dividido en seis segmentos a criterio del autor. Luego se seleccionaron cuatro segmentos escogiéndose en cada uno una estación de muestreo, esta selección no fue al azar pues durante el muestreo se escogieron los puntos en base a la accesibilidad del espacio y tiempo, así como zonas con determinadas características. Estos fueron georreferenciados con un GPS (GARMIN etrex 10) (Figura 9 y Tabla 4).

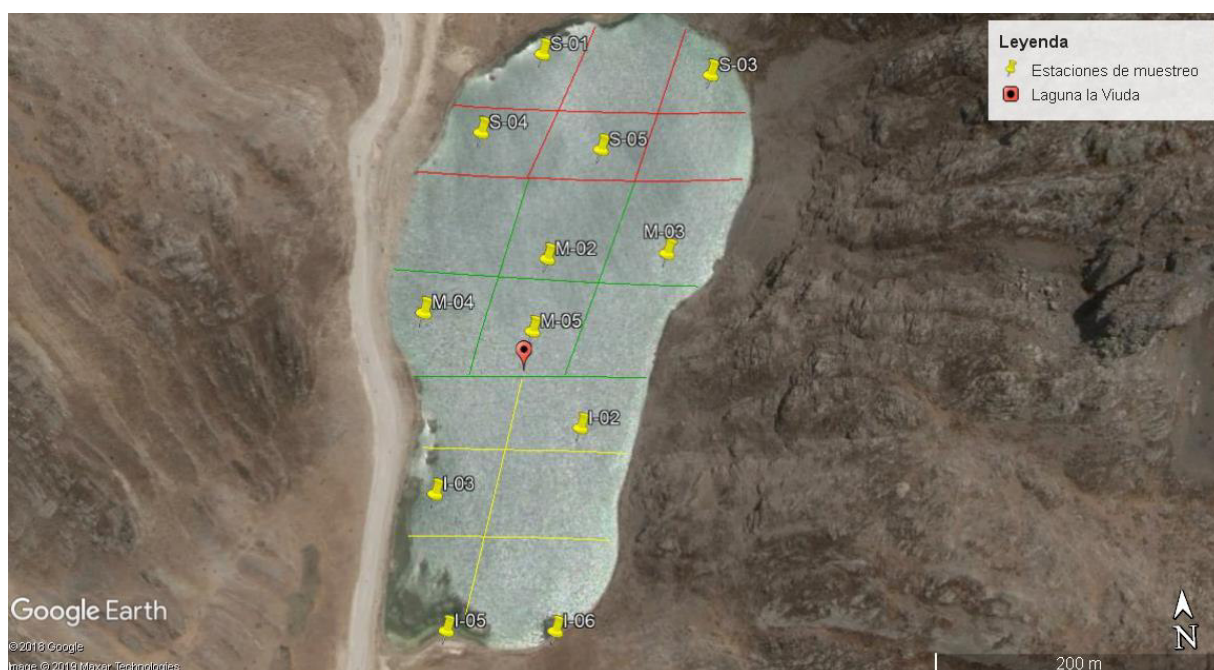


Figura 9. Muestreo estratificado no aleatorio de la laguna La Viuda para el estudio de la variabilidad estacional del fitoplancton en los meses de abril, julio y noviembre del 2017. Tres estratos (S=estrato superior, orientado al norte: líneas rojas; M=estrato medio: líneas verdes e I=estrato inferior, orientado al sur: líneas amarillas). Fuente: Google Earth.

Tabla 4. Ubicación espacial de las estaciones de muestreo estratificado no aleatorio (UTM) para los meses de abril, julio y noviembre del 2017 de la laguna La Viuda. (S=estrato superior, M=estrato inferior e I=estrato inferior)

Estaciones	Coordenadas UTM		Características físicas de las estaciones de muestreo
S-01	N	8744282	Litoral con abundante sedimento arenoso
	E	342894	
S-03	N	8744257	Zona limnética
	E	343030	
S-04	N	8744219	Zona limnética
	E	342842	
S-05	N	8744203	Zona limnética
	E	342938	
M-03	N	8744106	Zona limnética
	E	342988	
M-02	N	8744116	Zona limnética
	E	342890	
M-04	N	8744076	Zona limnética
	E	342792	
M-05	N	8744058	Zona limnética
	E	342875	
I-02	N	8743977	Zona limnética
	E	342910	
I-03	N	8743930	Litoral pedregoso sin vegetación
	E	342789	
I-05	N	8743819	Litoral pedregoso sin vegetación, presencia de lodo.
	E	342793	
I-06	N	8743815	Litoral pedregoso, vegetación sumergida
	E	342882	

### 3. Análisis de la calidad del agua.

Los parámetros fisicoquímicos evaluados fueron salinidad, fosfato, nitrato, fósforo total y dureza según el APHA (2012). La medición del nitrógeno total fue calculada por el método de Kjeldahl (APHA, 2012). La temperatura fue registrada con un termómetro (Boeco) y el pH con varillas Sigma-Aldrich, ambas *in situ*. La conductividad fue medida con un equipo multiparámetro (Thermo Scientific). Estos parámetros fueron medidos en la evaluación preliminar y estacional.

Los metales totales se analizaron en la evaluación preliminar, mediante el método de espectrofotometría de plasma ICP-OES (EPA, 1994) y los datos resultantes fueron transformados a logaritmo decimal para la interpretación de los resultados.

## **4. Diseño de estudio del fitoplancton**

### **4.1. Recolección de muestras**

La metodología de recolección de las muestras se realizó de acuerdo al APHA (2012); MINAM (2014), se realizaron tomas directas de 1L de agua superficial usando frascos plásticos de primer uso cuyas medidas fueron 16.5 cm de largo y 9 cm de diámetro, las muestras fueron preservadas con solución de formaldehído al 4% (J. T. Baker; FV=07/2021) para su análisis posterior. Las muestras fueron tomadas a 0-30 cm de profundidad. Para el ensayo de la incertidumbre se usó también muestras frescas sin preservar y se refrigeraron a 4°C en lugar oscuro hasta su llegada al laboratorio.

### **4.2. Identificación y evaluación del fitoplancton de la laguna La Viuda.**

Se realizó el ensayo de fitoplancton cualitativo y cuantitativo de acuerdo al APHA (2012), la técnica de concentración usada fue la de sedimentación, el cual se hizo en el mismo frasco de recolección, el tiempo que se dejó en sedimentación fue a razón de 1 hora por milímetro de la columna de profundidad.

Para la identificación y enumeración del fitoplancton se utilizó un microscopio compuesto con un ocular micrométrico y/o reticulado (LW scientific I-4 series) calibrado con una lámina patrón según el método de Lackey para una magnificación de hasta 1000x, este último consiste en colocar una gota en una lámina portaobjeto con la ayuda de una micropipeta (Capp Denmark) y cubrirlo con una laminilla de 25 x 25 mm (Thermo Scientific) según Lackey (1938).

La identificación taxonómica se realizó hasta género de acuerdo a Prescott (1973), Bellinger y Sigee, (2010) en un microscopio compuesto (LW scientific I-4 series) y un microscopio compuesto de campo oscuro (Leica DM 2500). También se usó el libro de Round *et al* (1992) para profundizar sobre los términos de diatomeas y la página web: [www.algaebase.org](http://www.algaebase.org).

Finalmente, se realizó el cálculo de la abundancia relativa y los índices de diversidad alfa: Riqueza: Índice de Margalef; Diversidad: Índice de Shannon, el Índice de Dominancia de Simpson y el Índice de Pielou (Samo *et al.*, 2008; MINAM, 2014) con el fin de comparar los índices con y sin incertidumbre de los organismos estudiados.



## 5. Estimación de la incertidumbre

### 5.1. Estimación de la incertidumbre cualitativa

Después de conocer los organismos fitoplanctónicos más frecuentes en las dos primeras evaluaciones del 2016. Se procedió a estimar la evaluación de la incertidumbre taxonómica, es decir la incertidumbre cualitativa.

Para este experimento participaron tres niveles de analistas: analista 1, analista 2 y analista 3; el analista 1 y 2 no tenían experiencia en identificación de fitoplancton, el analista 3 tenía experiencia y capacitación, éste fue comparado con un laboratorio externo acreditado.

Se capacitó y evaluó al personal involucrado en el experimento, para esto se realizaron dos evaluaciones:

- Evaluación teórica (Anexo 3) el cual consistió de un examen taxonómico hasta el nivel de División de algas (Cyanophyta, Chlorophyta, Dinophyta, Bacillariophyta) y otro examen taxonómico hasta el nivel de género de los organismos que iban a ser evaluados en el cálculo de la incertidumbre cualitativa (*Oocystis lacustris* Chodat y *Nitzschia* sp). Este examen fue realizado en base a las imágenes de Prescott (1973) y [www.algaebase.org](http://www.algaebase.org). Para pasar a la evaluación práctica todo el personal debía haber aprobado el examen en un 100%.
- Evaluación práctica o incertidumbre cualitativa, para esta prueba se usó montajes semipermanentes de las muestras de agua obtenidos de la laguna La Viuda, en láminas portaobjetos (APHA, 2012). Para este experimento se seleccionaron 15 organismos identificados hasta género y corroborados con un laboratorio referente acreditado externo. El criterio que se tomó para escogerlos fue por su tamaño: 4 grandes (40-60µm), 3 medianas (20-40 µm) y 8 pequeñas (2-20 µm) Salas (2011); después de la evaluación preliminar fitoplanctónica de la laguna, se sabía que muestras tenía tal organismo así como su abundancia y partir esto se procedió a preparar los montajes semipermanentes colocando una gota de la muestra y para una mayor duración se agregó una gota de glicerina en una lámina portaobjeto sellándola con esmalte de uñas. Se seleccionaron 30 campos de observación en las láminas para cada organismo evaluado. Cada lámina fue codificada con la letra inicial L seguido de un número correlativo (L1, L2, ... etc.) y la fecha de rótulo; cada campo se encerró con un plumón indeleble

negro y se le asignó un numero correlativo, de esta manera se podía saber que el organismo estaba ubicado en el campo X de la lámina LY (Figura 10).



Figura 10. Láminas con montaje semipermanentes de la laguna La Viuda. Los círculos negros son los campos encerrados con un plumón indeleble negro que contienen el organismo de interés.

Se le pidió a cada analista que identificara 30 campos por organismo fitoplanctónico evaluado según Prescott (1973, 1978) y Bellinger y Sigeo (2010) hasta la categoría taxonómica de División. Esto se realizó en diferentes días y horarios y se registró en formatos (Anexo 4 y 5). El mismo proceso se hizo para identificar hasta género, pero únicamente para *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. Una vez identificados los 30 campos por cada organismo fitoplanctónico, se mezclaron nuevamente las láminas y se cambió la codificación de las láminas para que volvieran a identificar el organismo evaluado 30 veces. Se registró en Formatos (Anexo 4 y 5).

Se realizó un Diagrama de árbol para determinar el número y tipo de variables que intervienen en la clave dicotómica para identificar la División de los 15 organismos evaluados y los géneros de los dos organismos seleccionados.

Se confecciono una hoja de cálculo en Excel para calcular las siguientes probabilidades (Movellan, 2008; Seier y Joplin; 2011; Caiza, 2015):

- a) Probabilidad de identificar la categoría taxonómica de División y/o género de los organismos fitoplanctónicos de interés
- b) Probabilidad de no identificar la categoría taxonómica de División y/o género del organismo fitoplanctónico de interés.
- C) Probabilidad de identificar la categoría taxonómica de División y/o género del organismo de interés habiendo identificado las variables características anteriores de identificación.

En base a estas probabilidades se completa los valores que se requiere en la fórmula del teorema de Bayes y se obtiene la probabilidad de haber identificado el nivel taxonómico de División y/o género *dado que esa División y/o género estaba presente* y esta viene a ser la incertidumbre cualitativa del analista evaluado. Asimismo, se le asigno un límite mínimo aceptable a la incertidumbre cualitativa (aseguramiento de calidad) es cual fue de 0.75, por encima de este valor se considera que el analista tiene un nivel medianamente aceptable para identificar el organismo de interés, este criterio fue tomado de Vuorio *et al.* (2015).

## **5.2. Cultivo del material de referencia de trabajo para fitoplancton.**

Se utilizó una centrífuga (K Model:PLC-12E) para concentrar la muestra de agua proveniente de la laguna La Viuda. Se tomó 10 mL de las muestras de agua y se llevó a 2000-2500 rpm por 5 minutos. Se realizó una decantación del sobrenadante y se sembró en: caldo basal claro modificado para aislar clorofitas (Condor, 1997), Caldo Chu # 10 para aislar diatomeas y Caldo Carefoot's para aislar dinoflagelados (Andersen, 2005) con vitaminas y sin vitaminas. Los medios sin vitaminas fueron esterilizados en un autoclave (LDZX-30KBS Vertical Heating Pressure Stem sterilizer). Los cultivos fueron incubados a temperatura ambiente en condiciones naturales observándolos por dos semanas, posteriormente fueron aislados en los mismos medios mencionados anteriormente, pero en medio solido (agar), concentrando la muestra mediante centrifugación para posteriormente sembrarlo por diseminación y por estriado.

Se caracterizaron las colonias y se realizó la identificación mediante una observación directa al microscopio. Los organismos aislados se tomaron como



cepas de referencia de trabajo previamente identificado por un laboratorio acreditado. En este experimento solo se pudo aislar *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp.

### 5.3. Estimación de la incertidumbre cuantitativa

Para estimar la incertidumbre cuantitativa del fitoplancton obtenido de la laguna La Viuda, primero se describió los pasos que están involucrados en la obtención del resultado final expresado en cel/mL, los pasos se muestran en la Figura 11.

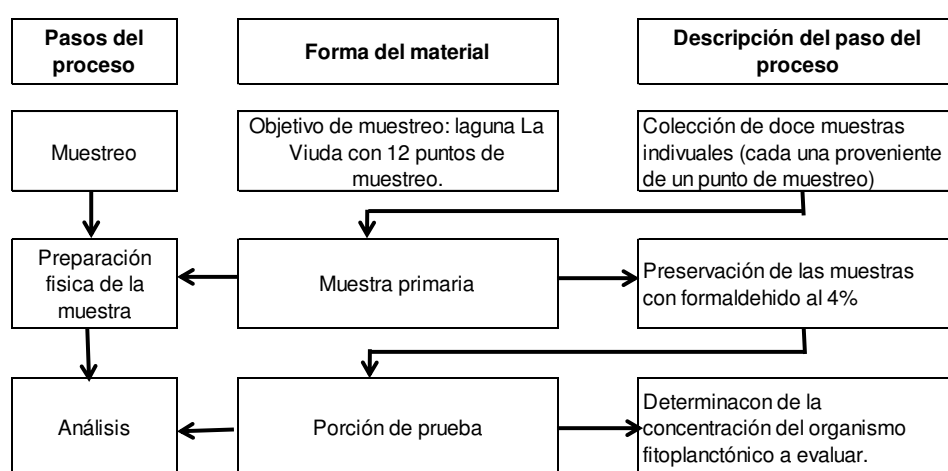


Figura 11. Diagrama esquemático del proceso de medida que incluye el muestreo, la preparación física (incluyendo el transporte) y el análisis del organismo fitoplanctónico. Adaptado de Grøn *et al.*, 2007.

La razón de conocer cada paso es porque éstos contribuyen a la medida de la incertidumbre.

#### 5.3.1. Estimación de la incertidumbre del muestreo.

El método y el cálculo de la incertidumbre de muestreo fueron realizados de acuerdo a Grøn *et al.* (2007), el cual consistió primero en realizar un “Diseño de réplica” para dos objetivos de muestreos: máxima concentración de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. y mínima concentración de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp (Figuras 12 y 13), a continuación, se explica en qué consistió el experimento:

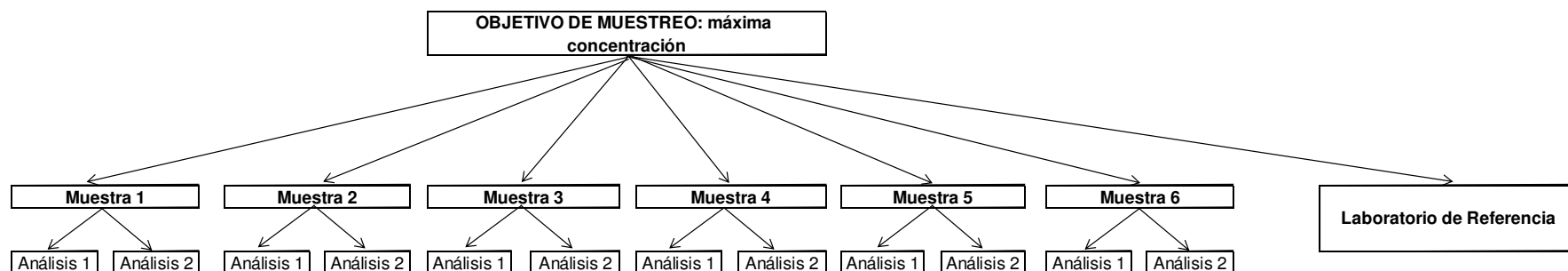


Figura 12. Modelo de diseño experimental de estudio para estimar la incertidumbre cuantitativa del muestreo, se escogió el tipo de diseño de réplica con dos divisiones para un objetivo de muestreo de máxima concentración de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. Se tomaron siete muestras del objetivo de muestreo, de las cuales uno de ellos fue enviado a un laboratorio de referencia.

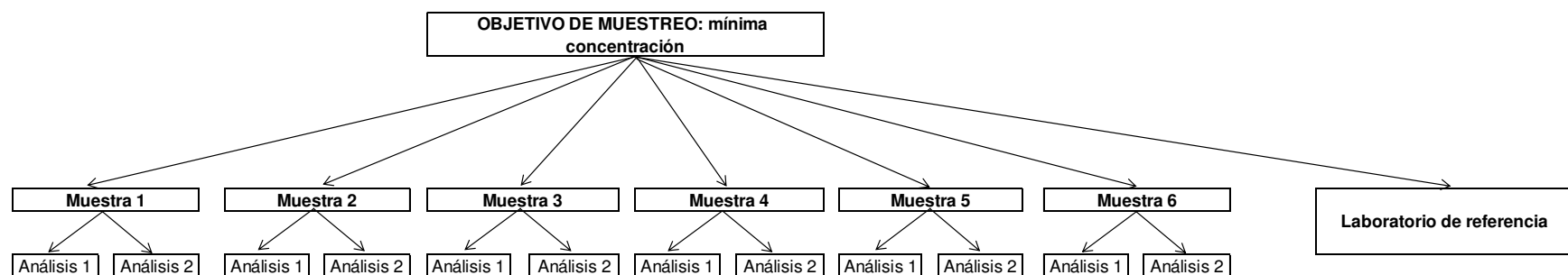


Figura 13. Modelo de diseño experimental de estudio para estimar la incertidumbre cuantitativa del muestreo, se escogió el tipo de diseño de réplica con dos divisiones para un objetivo de muestreo de mínima concentración de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. Se tomaron siete muestras del objetivo de muestreo, de las cuales uno de ellos fue enviado a un laboratorio de referencia.

## **Obtención de data para la incertidumbre de muestreo en laboratorio (*in vitro*)**

### Preparación del inóculo referente proveniente de cultivo.

Se tomaron las dos cepas de trabajo aisladas (*Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp.) y se sembró en caldo MBC modificado y Caldo Chu #10 respectivamente, se incubó a temperatura ambiente y en condiciones naturales, por 10 días.

Luego se realizó un recuento en la cámara de Neubauer a cada caldo de cultivo (Anexo 6), aplicando las siguientes formulas:

Si los conteos fueron realizados en los campos (cuadrados) que median 0.25 mm por lado se usaba la fórmula:

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Total de células contadas} \times 160000}{\text{Número de campos}}$$

Si los conteos fueron realizados en los campos (cuadrados) que median 1 mm por lado se usaba la fórmula:

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Total de células contadas} \times 10000}{\text{Número de campos}}$$

Para *Oocystis lacustris* la concentración del inóculo fue de  $5.8 \times 10^6$  cel/mL y para *Nitzschia* sp. fue de  $1.5 \times 10^5$  cel/mL.

### **Inoculación de frascos**

Se preparó dos concentraciones en relación al inóculo de referencia proveniente de cultivo (*Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp.): inóculo 1 (mínima concentración) e inóculo 2 (máxima concentración) (Anexo 7).

#### A. Inóculo 1 (mínima concentración).

Del caldo de cultivo de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. con la concentración conocida se realizó una dilución hasta llegar a una concentración de  $10^3$ , de esta concentración fueron agregados 10 ml en un recipiente que contenía 15 litros de agua. Se homogenizó.

Finalmente, el analista de muestreo procedió a realizar la toma de muestra de agua directa (1L), obteniendo al final 7 frascos de muestras, se realizó la preservación con formaldehído al 4%.

Una muestra se envió al laboratorio de referencia y los 6 restantes fueron para el análisis de recuento de fitoplancton por duplicado. Estos frascos fueron rotulados como CI-1

#### B. Inóculo 2 (máxima concentración).

Se agregó 9 mL del cultivo de *Oocystis lacustris*.y 10 mL del cultivo de *Nitzschia* sp. con la concentración conocida se agregaron en un recipiente que contenía 15 litros de agua. Se homogenizó.

Finalmente, el analista de muestreo procedió a realizar la toma de muestra de agua directa (1L), obteniendo al final 7 frascos de muestras, se realizó la preservación con formaldehído al 4%.

Una muestra se envió al laboratorio de referencia y los 6 restantes fueron para el análisis de recuento de fitoplancton por duplicado. Estos frascos fueron rotulados como CI-2.

#### **Obtención de data para la incertidumbre de muestreo en campo (*in situ*)**

- Se escogieron dos puntos divergentes de muestreo en la laguna La Viuda, el primer lugar de muestreo escogido fue la estación I-06 y el segundo lugar de muestreo fue la estación S-03.
- El analista de muestreo se encargó de realizar los muestreos (con cuatro replicas) en cada punto.
- Se procedió a realizar la preservación, concentración y finalmente se hizo por duplicado el análisis de fitoplancton a cada muestra en el laboratorio. Los frascos fueron rotulados como sigue: para I-06 se le codifico como P-1 y para S-03 se le codifico como P-2.

#### **Cálculos para la estimación de incertidumbre de muestreo**

- Se determinó la incertidumbre del muestreo mediante un análisis de ANOVA de una vía para cada mensurando (organismos fitoplanctónicos), en este trabajo se realizó la incertidumbre de muestreo para *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp Anexo 9. La incertidumbre fue cuantificada en términos de la desviación estándar.

- Se calculó el Z-score en base a Pazos *et al* (2007) para evaluar el grado de satisfacción de los resultados con un laboratorio de referencia, empleando la fórmula:

$$Z = \frac{\text{Dato} - \text{Valor verdadero}}{\text{Desviación estándar}}$$

Se considera el valor verdadero al resultado del laboratorio de referencia para *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. si el valor  $|z| \leq 2$  en los recuentos se considera satisfactorio, si  $2 \leq |z| \leq 3$ , se considera cuestionable, si el valor es  $|z| > 3$  el resultado es insatisfactorio.

### 5.3.2. Estimación de la incertidumbre del análisis aplicando la Ley de Propagación de incertidumbre.

Para realizar la estimación de la incertidumbre analítica se debe seguir un procedimiento, el presente trabajo está basado en la publicación de Niemelä (2003), JCGM (2009) Y EURACHEM/CITAC (2012). Los pasos que se siguieron fueron:

#### **PASO 1. Especificar el mensurando.**

El mensurando en el presente trabajo es la “concentración del fitoplancton superficial de la Laguna La Viuda”.

#### **PASO 2. Identificar las fuentes de incertidumbre.**

Para identificar las fuentes de incertidumbre se analizó la ecuación matemática utilizada para estimar el mensurando del PASO 1.

La fórmula utilizada fue la de Lackey:

$$\frac{No}{mL} = \frac{Cx A_t}{A_s x S x V}$$

Dónde:

C = número de organismos contados

A<sub>t</sub> = área del cubreobjetos mm<sup>2</sup>

A<sub>s</sub>=área de una franja, mm<sup>2</sup>

S= número de franja contada

V=Volumen de la muestra bajo el cubreobjetos en mL

F=Factor de dilución y/o concentración (se aplica el factor F cuando se haya diluido o concentrado la muestra).

Se ubicaron los principales parámetros de la ecuación en un diagrama de Ishikawa (Bauer *et al.*, 2006): área, volumen, y conteo celular (Figura 14).

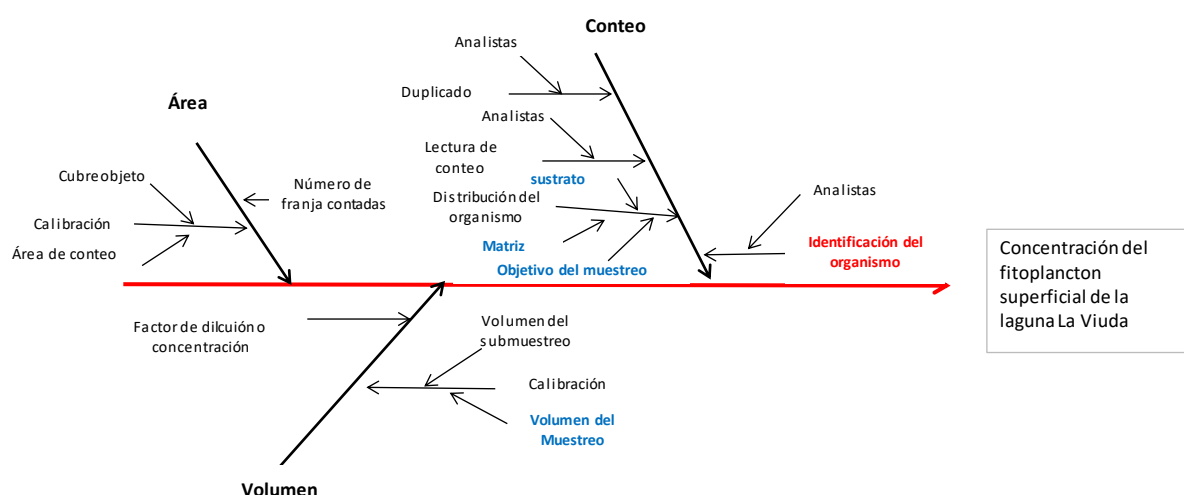


Figura 14. Diagrama de Ishikawa donde se señala las principales fuentes de incertidumbre del mensurando a estudiar, la línea roja señala al mensurando (concentración del fitoplancton superficial de la laguna La Viuda), las líneas negras son los principales parámetros de la ecuación matemática y las líneas celestes son otras fuentes de incertidumbres asociadas a estos parámetros.

### **PASO 3. Cuantificar la incertidumbre de los componentes individuales.**

Para cuantificar la incertidumbre primero se calculó las incertidumbres individuales y luego se combinó. Se tomó en cuenta la ecuación matemática para medir el mensurando, debido a que en el modelo matemático están las principales fuentes de incertidumbre. En este caso, se usó la fórmula de Lackey para medir la concentración de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp.

A continuación, se describe como se hallaron los componentes individuales de incertidumbres relativas:

- **Incetidumbre estándar relativa del número de organismos  $w_z^2$**

Para calcular este componente, se realizó los conteos por duplicado obtenidos de las seis muestras (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) tanto para la máxima concentración y mínima concentración (Figuras 12 y 13), se sumó

los duplicados, y se aplicó la fórmula del  $w_z^2$  para cada suma de duplicado y finalmente se promedió los  $w_z^2$  para obtener un solo valor; lo mismo se realizó para el otro nivel de concentración.

$$w_z^2 = \frac{1}{z}$$

Donde z: número total de organismos en un ensayo.

El conteo fue realizado hasta llegar a un total de 400 células de toda la población fitoplanctónica presente y para el cálculo de la incertidumbre se consideró el número de células del organismo de interés)

- **Incertidumbre estándar relativa de la lectura del conteo de microorganismos  $w_t^2$**

Para esto se realizó el conteo de 16 láminas por un analista (lámina A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O y P), luego se cambiaron los rótulos y se volvió a realizar la lectura de conteo por el mismo analista, el conteo fue realizado hasta llegar a un total de 400 células de toda la población fitoplanctónica presente. Para el cálculo de la incertidumbre se consideró el número de células del organismo de interés. Estos valores se registraron en una tabla con los resultados paralelos y se sacó el logaritmo neperiano de cada conteo, se restó y se elevó al cuadrado, a estos resultados se le calculó el promedio, y el RSD<sup>2</sup> (Desviación estándar relativa) este valor viene a ser la incertidumbre de la lectura del conteo de microorganismos  $w_t^2$

- **Incertidumbre estándar relativa del volumen  $w_v^2$**

El cálculo de esta incertidumbre fue obtenido según el Tipo B en base a la especificación técnica de la micropipeta de trabajo (5-50 µL).

- **Incertidumbre estándar relativa de los duplicados de los análisis  $w_{dp}^2$**

Para esto se realizó el conteo de seis laminas con sus respectivos duplicados tanto para la mínima y máxima concentración, para el cálculo de la incertidumbre se consideró el resultado final de cada lámina (cel/mL) porque el interés es evaluar la incertidumbre de los resultados duplicados de un análisis. El valor de esta incertidumbre se obtuvo según la siguiente formula, el cual es una derivación del RSD del recuento de dos resultados de duplicados:

$$w_{dp}^2 = 2x \left( \frac{C1 - C2}{C1 + C2} \right)^2$$

Donde:

$w_{dp}^2$  es la varianza de los duplicados de los análisis

C1, es el resultado del primer recuento

C2, es el resultado del segundo recuento

- **Incertidumbre estándar relativa de la distribución del campo de conteo**  
 **$w_c^2$**

Se realizó el montaje de 12 láminas para *Nitzschia* sp y *Oocystis lacustris* (CI-2-1, CI-2-2, CI-2-3, CI-2-4, CI-2-5 y CI-2-6 con sus respectivas láminas duplicadas); se seleccionaron para el conteo todos los campos necesarios hasta llegar a un conteo mínimo de 400 células para el caso del conteo de *Oocystis lacustris* (máxima concentración) y se contó el número del organismo de interés para cada campo, se calculó la desviación estándar y el RSD, para el caso de la mínima concentración se contó toda la lámina.

#### **PASO 4. Calcular la incertidumbre combinada**

Para obtener la incertidumbre estándar relativa combinada  $w_y$  se aplicó la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de los componentes individuales de incertidumbre:

$$w_y = \sqrt{w_Z^2 + w_t^2 + w_V^2 + w_{dp}^2 + w_c^2}$$

$$w_y = \text{incertidumbre estandar combinada}$$

Una vez obtenido el valor de la incertidumbre estándar combinada, se utilizó para expresarlo con el resultado de los ensayos correspondientes a *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp de dos maneras según el tipo de distribución que tenga el microorganismo:

- Si el microorganismo tiene una distribución normal, se convierte la incertidumbre combinada relativa en expandida ( $U_y$ ), para esto se usa el factor de cobertura, para una distribución normal con un nivel de confianza



del 95% se usa el factor de cobertura  $K=2$ . La incertidumbre relativa combinada expandida se da mediante la siguiente formula:

$$U_y = w_y \times K \times (\text{Concentración del organismo fitoplanctónico} \frac{\text{cel}}{\text{mL}})$$

### Reporte de la incertidumbre

El reporte de resultado es expresado de la siguiente manera:

$$\text{Resultado} = \text{Resultado obtenido} \pm U_y$$

- Si no posee una distribución normal, expresarlo en un intervalo de confianza al 95% en la cual hay que calcular el límite superior LS y Límite inferior LI usando las siguientes formulas:

Primero, se calcula el  $w_A$  (Incertidumbre relativa al análisis) según la siguiente formula:

$$w_A = \sqrt{w_f^2 + w_t^2 + w_{dp}^2 + w_c^2}$$

Comparamos el  $w_z$  con el  $w_A$ ,

Si  $w_A > \frac{1}{2} w_z$  entonces se asume un modelo de distribución binomial negativa y se calcula los limites según las siguientes fórmulas:

$$LS = \frac{Z}{V} (1 + 2 w_y)$$

$$LI = \frac{Z}{V} (1 - 2 w_y / 1 + 2 w_y)$$

Dónde:

$Z$ =número de microorganismos

$V$ =volumen de prueba

Si  $w_A < \frac{1}{2} w_z$ , entonces se asume un modelo de distribución de Poisson y se calcula los limites según las siguientes fórmulas:

$$LS = \frac{F}{v} (z + 2 + 2\sqrt{z + 1})$$

$$LI = \frac{F}{v} (z + 2 - 2\sqrt{z + 1})$$

Donde:

Z = conteo observado

F = es el factor de dilución

v = el volumen de la porción de prueba

### **Reporte de la incertidumbre**

Los resultados se expresan de la siguiente manera:

*Numero de microorganismos  $\left(\frac{cel}{mL}\right) \pm el\ intervalo\ de\ confianza\ al\ 95\%$*

Finalmente se presenta los datos del fitoplancton obtenido de la laguna La Viuda, Lima-Perú para los meses de abril, julio y noviembre del 2017, y se reporta los resultados con sus respectivas incertidumbres para *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp.

## RESULTADOS

### 1. Área de estudio:

#### 1.1. Análisis de la calidad del agua.

Los resultados de la calidad del agua de la laguna La Viuda para el mes de noviembre del 2016 indican que es un cuerpo de aguas frías (13.3-17.5 °C), aguas dulces (salinidad 0.11-0.13 ppm), ligeramente ácidas (pH 6), conductividad (166-183 $\mu$ S/cm), fosfato (0.001-0.04 ppm), nitrato (0.09-0.16 ppm), nitrógeno total (2.96-3.42 pm), fósforo (0.008-0.054 ppm) (Tabla 5). En caso de asignarse a esta laguna a la categoría 4 de la normativa de los estándares de la calidad del agua (ECA), los valores de conductividad estarían dentro del parámetro permisible, en cuanto al fósforo total solo la estación E-08 estaría cumpliendo, la concentración de nitrato para las tres estaciones también cumpliría, pero el nitrógeno total no cumpliría para ninguna de las estaciones de muestreo, asimismo el pH está por debajo del límite establecido. Los niveles de fosfato estuvieron oscilando entre el grado 1 y 2, es decir entre un nivel no contaminado y un nivel donde hay sobrecrecimiento de plantas y el oxígeno decrece en el agua según Wimalawansa y Wimalawansa (2015). En caso de que se le asigne la categoría 2, subcategoría C4 (Extracción y cultivo de especies hidrobiológicas en lagos y lagunas), el parámetro de nitrato y pH estaría cumpliendo para las tres estaciones, en el caso del fósforo total solo la E-08 estaría cumpliendo con el ECA.

Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos de las estaciones de muestreo E-01, E-02 y E-08 en la Laguna La Viuda en primavera (noviembre) - 2016.

Estación	Temperatura (°C)	pH	Conductividad ( $\mu$ S/cm)	Salinidad (ppm)	Fosfato (ppm)	Nitrato (ppm)	Nitrógeno (ppm)	Fósforo (ppm)
E-01	13,3	6	182	0,13	0,01	0,16	3,42	0,042
E-02	13,8	6	183	0,13	0,04	0,12	2,96	0,054
E-08	17,5	6	166	0,11	0,001	0,09	3,18	0,008

Respecto a los metales totales, se observa que los elementos con valores más elevados son Ca (22.78-25.84 ppm), Si (1.15-1.21 ppm), Mg (1.51-1.54 ppm), K (0.35-0.38 ppm) y Na (0.24-0.26 ppm) (Figura 15 y Anexo 10). En caso de asignársele a esta laguna la categoría 4, los parámetros inorgánicos de Antimonio

(Sb), Arsénico (As), Bario (Ba) Cadmio (Cd), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Mercurio (Hg), Niquel (Ni), Plomo (Pb), Selenio (Se), Talio (Tl) y Zinc (Zn) estarían cumpliendo los ECAs.

En caso de que la laguna fuera asignada a una categoría 2, subcategoría C4 (Extracción y cultivo de especies hidrobiológicas en lagos y lagunas), los metales u elementos inorgánicos requeridos para esta categoría estarían cumpliendo con el ECA (Anexo 11).

La dureza total medida como carbonato de calcio se registró para la E-01: 70.28, E-02: 70.79 y E-08: 63.11 mg CaCO<sub>3</sub>/L.

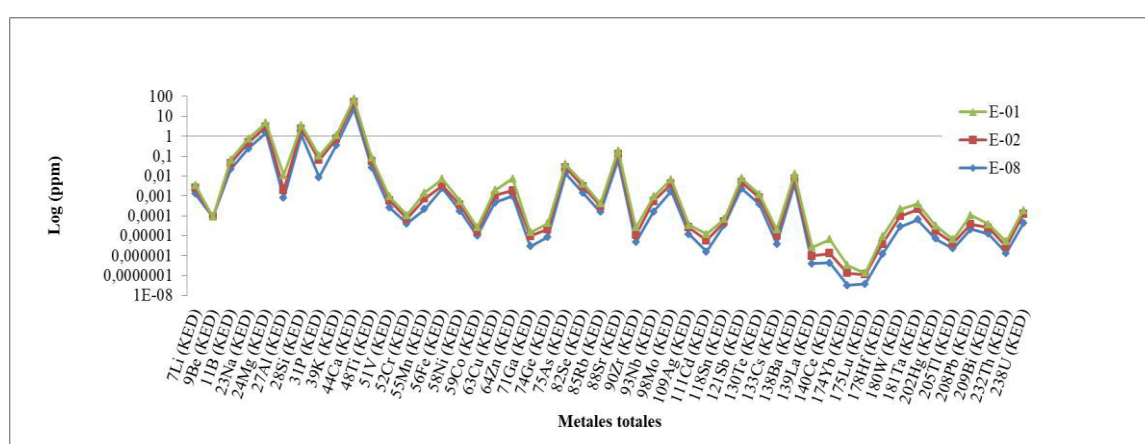


Figura 15. Concentración de metales totales (ppm) por ICP óptico de las estaciones E-01, E-02 y E-08 de la laguna La Viuda en primavera (noviembre - 2016).

Los resultados de la calidad del agua de la laguna La Viuda para el mes de abril 2017 indican que es un cuerpo de aguas frías (9-9.7 °C), aguas dulces (salinidad 0.1 ppm), ligeramente ácidas (pH 6), conductividad (173.6-175.3 µS/cm), fosfato (0.0004-0.0007 ppm), nitrato (0.1693-0.2266 ppm), nitrógeno total (1.05-1.35 pm), fósforo (0.001-0.009 ppm) (Tabla 6). En caso de asignarse a esta laguna a la categoría 4 de la normativa de los estándares de la calidad del agua (ECA), los valores de conductividad, el fosforo total y el nitrato estarían dentro del parámetro permisible, pero el nitrógeno total no cumpliría para ninguna de las estaciones de muestreo, asimismo el pH está por debajo del límite establecido. Los niveles de fosfato estuvieron oscilando en el grado 1 es decir entre un nivel no contaminado según Wimalawansa y Wimalawansa (2015).

En caso de que se le asigne la categoría 2, subcategoría C4 (Extracción y cultivo de especies hidrobiológicas en lagos y lagunas), el parámetro de nitrato, pH y fósforo total estaría cumpliendo para las tres estaciones con la normativa del ECA.

Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos las estaciones de muestreo S-05, I-03 y M-05 de la laguna La Viuda en otoño (abril) - 2017.

Punto	Temperatura (°C)	pH	Conductividad (μS/cm)	Salinidad (ppm)	Fosfato (ppm)	Nitrato (ppm)	Nitrogeno (ppm)	Fósforo (ppm)
S-05	9	6	173,6	0,1	0,0004	0,2056	1,35	0,009
I-03	9,2	6	174,4	0,1	0,0005	0,1693	1,18	0,001
M-05	9,7	6	175,3	0,1	0,0007	0,2266	1,05	0,004

Los resultados de la calidad del agua de la laguna La Viuda para el mes de julio 2017 indican que es un cuerpo de aguas frías (7.8-11.8 °C), aguas dulces (salinidad 0.1 ppm), ligeramente acidas (pH 6), conductividad (225.4-228.9 μS/cm), fosfato (0.1136-0.1654ppm), nitrato (0.1229-0.1618 ppm), nitrógeno total (0.6246-1.1971 pm), fósforo (0.0024-0.0043 ppm) (Tabla 7). En caso de asignarse a esta laguna a la categoría 4 de la normativa de los estándares de la calidad del agua (ECA), los valores de conductividad, el fósforo total y el nitrato estarían dentro del parámetro permisible, pero el nitrógeno total no cumpliría para ninguna de las estaciones de muestreo, asimismo el pH está por debajo del límite establecido. Los niveles de fosfato estuvieron oscilando en el grado 3 y 4, es decir en un nivel máximo aceptable y un nivel de crecimiento acelerado de planta y cianobacterias según Wimalawansa y Wimalawansa (2015). En caso de que se le asigne la categoría 2, subcategoría C4 (Extracción y cultivo de especies hidrobiológicas en lagos y lagunas), el parámetro de nitrato, pH y fósforo total estaría cumpliendo para las tres estaciones con el ECA.

Tabla 7. Parámetros fisicoquímicos las estaciones de muestreo S-05, I-03 y M-05 de laguna La Viuda en Invierno (julio) - 2017.

Punto	Temperatura (°C)	pH	Conductividad (μS/cm)	Salinidad (ppm)	Fosfato (ppm)	Nitrato (ppm)	Nitrógeno (ppm)	Fósforo (ppm)
S-05	7,7	6	227,5	0,1	0,1136	0,1229	0,8327	0,0026
I-03	11,8	6	228,9	0,1	0,1509	0,1618	0,6246	0,0024
M-05	7,8	6	225,4	0,1	0,1654	0,1586	1,1971	0,0043

Los resultados de la calidad del agua de la laguna La Viuda para el mes de noviembre del 2017 indican que es un cuerpo de aguas frías (10.5-10.7), aguas dulces (salinidad 0.1 ppm), ligeramente acidas (pH 6-6.5), conductividad (226.7-229.5  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), fosfato (0.1135-0.1548 ppm), nitrato (0.1115-0.1603 ppm), nitrógeno total (0.6138-1.1891 ppm), fósforo (0.0021-0.038 ppm) (Tabla 8). En caso de asignarse a esta laguna a la categoría 4 de la normativa de los estándares de la calidad del agua (ECA), los valores de conductividad y el nitrato estarían dentro del parámetro permisible, el fosforo total no cumpliría para la estación M-05, pero el nitrógeno total no cumpliría para ninguna de las estaciones de muestreo, asimismo el pH está por debajo del límite establecido para la estación S-05. Los niveles de fosfato estuvieron oscilando en el grado 3 y 4, es decir en un nivel máximo aceptable y un nivel de crecimiento acelerado de planta y cianobacterias según Wimalawansa y Wimalawansa (2015).

En caso de que se le asigne la categoría 2, subcategoría C4 (Extracción y cultivo de especies hidrobiológicas en lagos y lagunas), el parámetro de nitrato y pH estarían cumpliendo, en caso del fosforo total solo las estaciones S-05 e I-03 estarían cumpliendo con los límites del ECA.

Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos de las estaciones de muestreo S-05, I-03 y M-05 de laguna La Viuda en primavera (noviembre) - 2017.

Punto	Temperatura (°C)	pH	Conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	Salinidad (ppm)	Fosfato (ppm)	Nitrato (ppm)	Nitrogeno (ppm)	Fósforo (ppm)
S-05	10,5	6	229,5	0,1	0,1135	0,1115	0,8451	0,0021
I-03	10,7	6,5	226,7	0,1	0,1408	0,1603	0,6138	0,0023
M-05	10,7	6,5	226,7	0,1	0,1548	0,1422	1,1891	0,038

Se observó que la temperatura de las aguas se incrementó en el mes de noviembre del 2017 (primavera) en las tres estaciones de muestreo, únicamente la estación I-03 presentó un incremento de la temperatura en invierno (Figura 16-A). La salinidad no presentó variaciones en los tres meses del año y en las tres estaciones de muestreo sin variabilidad (Figura 16-B). El pH aumentó ligeramente en el mes de noviembre del 2017 (primavera) (Figura 16-C). El fosfato y la conductividad tuvieron un descenso en el mes de abril 2017 en comparación con los otros meses (Figura 16 D y E). El nitrato y el nitrógeno total se incrementaron en el mes de abril (Figura

16 F y H). El Fosforo total se incrementó en el punto M-05 en noviembre (Figura 16-G).

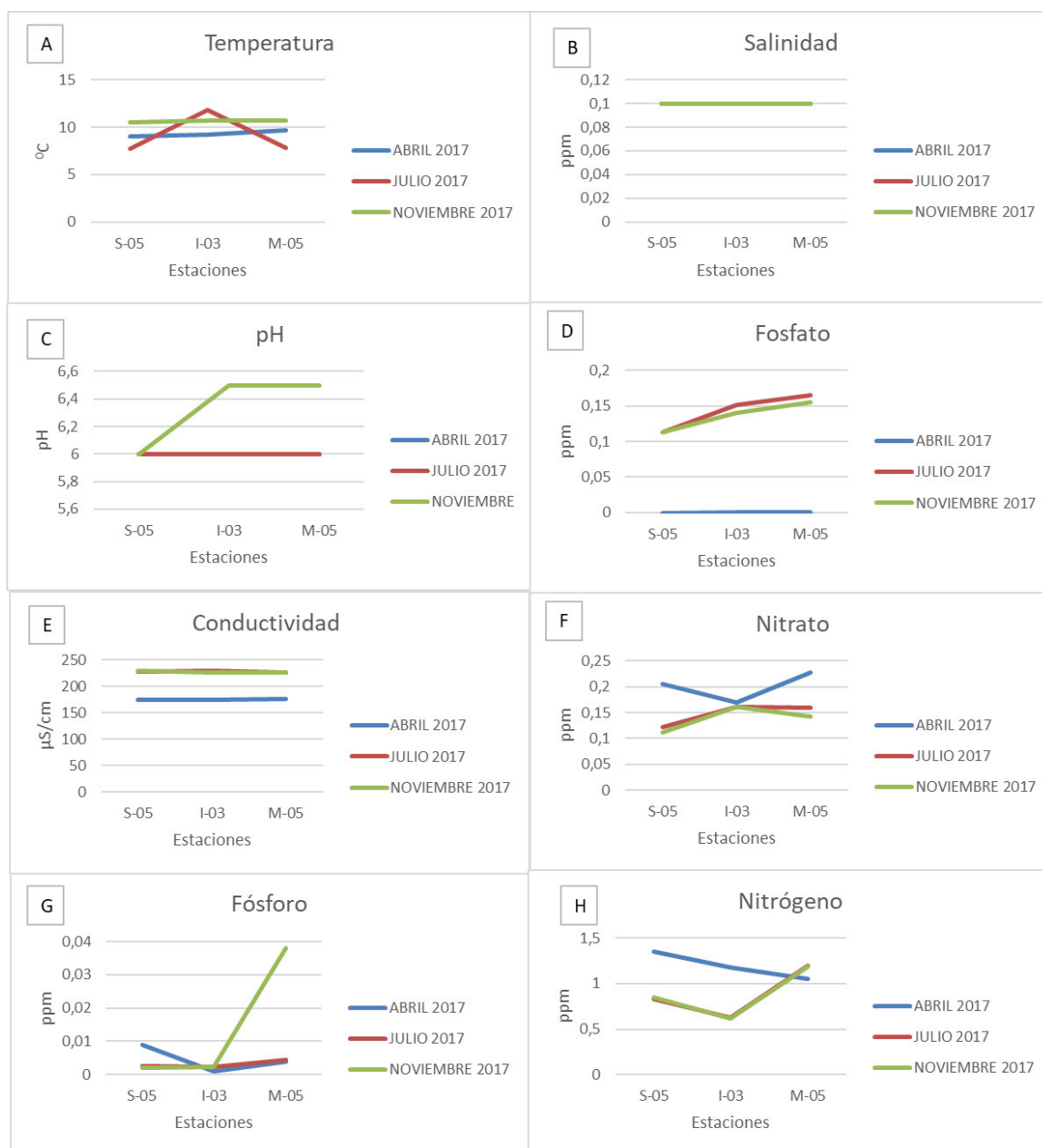


Figura 16. Concentración de los parámetros fisicoquímicos en el estrato superior (S-05), estrato medio (M-05) y estrato inferior (I-03) de la laguna La Viuda para los meses de abril, julio y noviembre del 2017.

## 1.2. Estudio del fitoplancton

### 1.2.1. Evaluación preliminar del fitoplancton

La evaluación fitoplanctónica en invierno (agosto - 2016) demostraron la mayor abundancia de Chlorophyta en E-02 (66.52%) y E-03 (63.19%), mientras que en la estación E-01 la mayor abundancia correspondió a la División Bacillariophyta (75.41%) (Tabla 9).

Tabla 9. Concentración (cel/mL) y su abundancia (%) por divisiones de fitoplancton en invierno (agosto – 2016), laguna La Viuda en las estaciones E-01, E-02 y E-03.

División	E-01		E-02		E-03	
	Concentración (cel /mL)	Abundancia (%)	Concentración (cel /mL)	Abundancia (%)	Concentración (cel /mL)	Abundancia (%)
Bacillariophyta	57,02	75,41	1,39	4,02	1,88	7,64
Dinophyta	2,07	2,73	8,37	24,11	5,80	23,61
Chlorophyta	14,88	19,67	23,09	66,52	15,51	63,19
Cyanophyta	0,41	0,55	0,00	0,00	0,00	0,00
Otros	1,24	1,64	1,86	5,36	1,36	5,56
Organismos fitoplanctónicos totales	75,62	100,00	34,71	100,00	24,55	100,00

La diversidad del fitoplancton de la laguna La Viuda (Lima-Perú) para el mes de agosto-2016 (Figura 17).

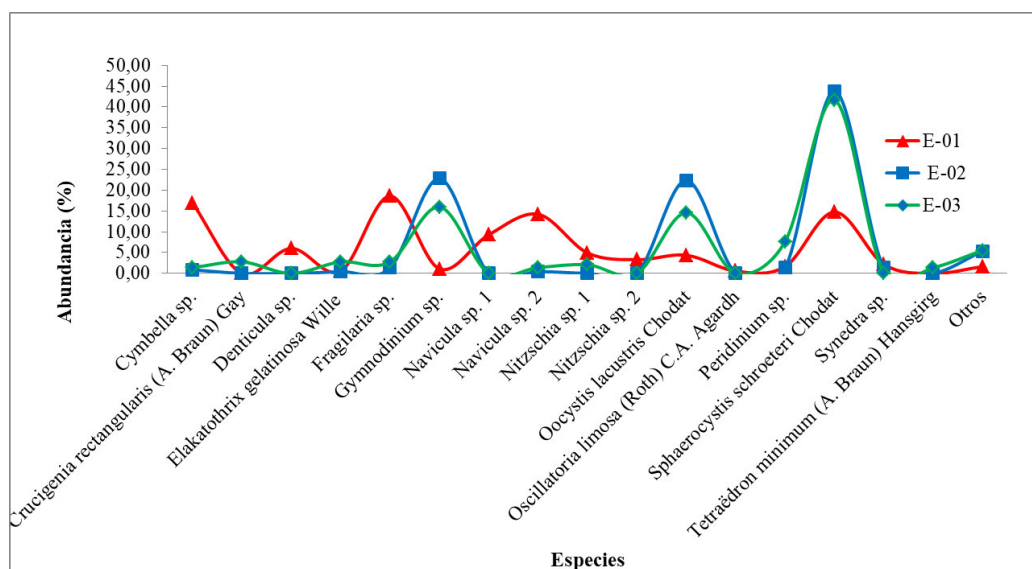


Figura 17. Abundancia (%) del fitoplancton en tres estaciones de muestreo (E-01, E-02 y E-03) de la laguna La Viuda, (agosto–2016).



fueron *Fragilaria* sp. (18.58%), *Cymbella* sp. (16.94 %), *Sphaerocystis schroeteri* (14.75%), *Navicula* sp. 2 (14.21%). En E-02, *Sphaerocystis schroeteri* fue el más abundante con el 43.76 % seguido de *Gymnodinium* sp. (22.77%) y *Oocystis lacustris* (22.32%). En E-03 el organismo más abundante fue *Sphaerocystis schroeteri* (41.67%) seguido de *Gymnodinium* sp. (15.97%) y *Oocystis lacustris* (14.58%) respectivamente.

La evaluación de las divisiones del fitoplancton en primavera (noviembre - 2016) demostraron la mayor abundancia de Bacillariophyta en E-01 (64.27%) y E-02 (55.30%), mientras que en las demás estaciones la División Chlorophyta fue la más abundante (Tabla 10). La mayor riqueza se dio en la estación E-03 (3.12) y E-01 (3.01).

La Diversidad del fitoplancton de la Laguna La Viuda (Lima-Perú) para el mes de noviembre-2016 demostró que *Fragilaria* sp. fue la especie más abundante en las estaciones E-01 (35.73%), E-02 (42.38%), mientras que en las demás estaciones la especie más predominante fue *Oocystis lacustris* (Figura 18). La mayor riqueza fue en la E-08 (3.55).

Tabla 10. Concentración (cel/mL) y su abundancia (%) por divisiones de fitoplancton en las estaciones de muestreo (E-01, E-02, E-04, E-05, E-06, E-07 y E-08) de la laguna La Viuda (noviembre–2016).

División	E-01		E-02	
	Concentración (cel/mL)	Abundancia (%)	Concentración (cel/mL)	Abundancia (%)
Bacillariophyta	485,84	64,27	578,33	55,30
Dinophyta	20,94	2,77	17,32	1,66
Chlorophyta	249,20	32,96	434,61	41,56
Cyanophyta	0,00	0,00	0,00	0,00
Otros	0,00	0,00	15,58	1,49
Organismos fitoplanctónicos totales	755,99	100,00	1045,84	100,00
División	E-04		E-05	
	Concentración (cel/mL)	Abundancia (%)	Concentración (cel/mL)	Abundancia (%)
Bacillariophyta	398,03	23,04	208,62	31,74
Dinophyta	120,51	6,98	51,33	7,81
Chlorophyta	1110,11	64,27	395,72	60,20
Cyanophyta	87,64	5,07	0,00	0,00
Otros	10,96	0,63	1,66	0,25
Organismos fitoplanctónicos totales	1727,25	100,00	657,32	100,00
División	E-06		E-07	
	Concentración (cel/mL)	Abundancia (%)	Concentración (cel/mL)	Abundancia (%)
Bacillariophyta	48,49	10,63	479,52	41,99
Dinophyta	6,93	1,52	42,62	3,73
Chlorophyta	400,07	87,67	614,50	53,81
Cyanophyta	0,00	0,00	0,00	0,00
Otros	0,87	0,19	5,33	0,47
Organismos fitoplanctónicos totales	456,36	100,00	1141,97	100,00
División	E-08			
	Concentración (cel/mL)	Abundancia (%)		
Bacillariophyta	159,81	43,42		
Dinophyta	20,09	5,46		
Chlorophyta	188,12	51,12		
Cyanophyta	0,00	0,00		
Otros	0,00	0,00		
Organismos fitoplanctónicos totales	368,02	100,00		

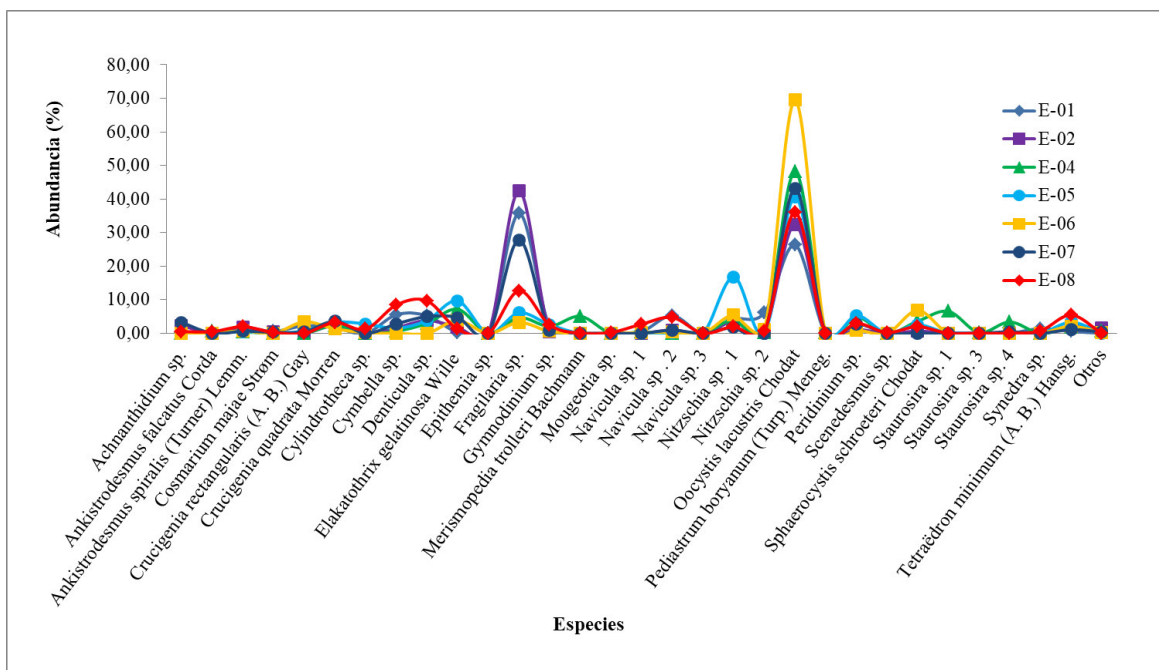


Figura 18. Abundancia (%) del fitoplancton en siete estaciones de muestreo (E-01, E-02, E-04, E-05, E-06, E-07 y E-08) para noviembre-2016. La clorofita *Oocystis lacustris* fue la especie más abundante (línea amarilla) en la E-06 de la laguna La Viuda.

### 1.2.2. Evaluación estacional del fitoplancton

La evaluación de las divisiones fitoplanctónicas en abril-2017 demostraron la mayor abundancia de las diatomeas en las estaciones de muestreo, excepto en I-05 e I-03 donde la abundancia de estas fue de 22.21% y 37.63% respectivamente frente a un 47.14% y 42.21% de clorofitas respectivamente (Figura 19).

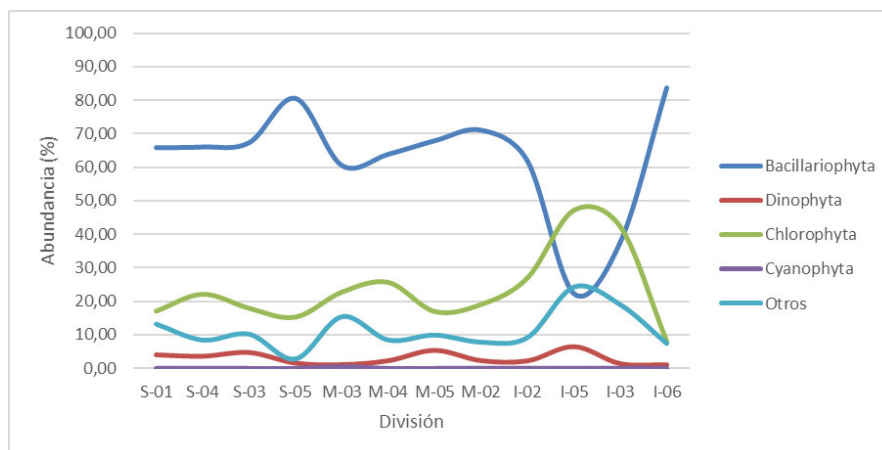


Figura 19. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo de la laguna La Viuda, abril – 2017. (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior)

En la diversidad genérica del fitoplancton de la laguna La Viuda para el mes de abril-2017 se observó que el género más importante fue *Fragilaria* sp. en todas las estaciones, el cual estuvo entre el 71.53% y 45.66 % de abundancia (Figura 20).

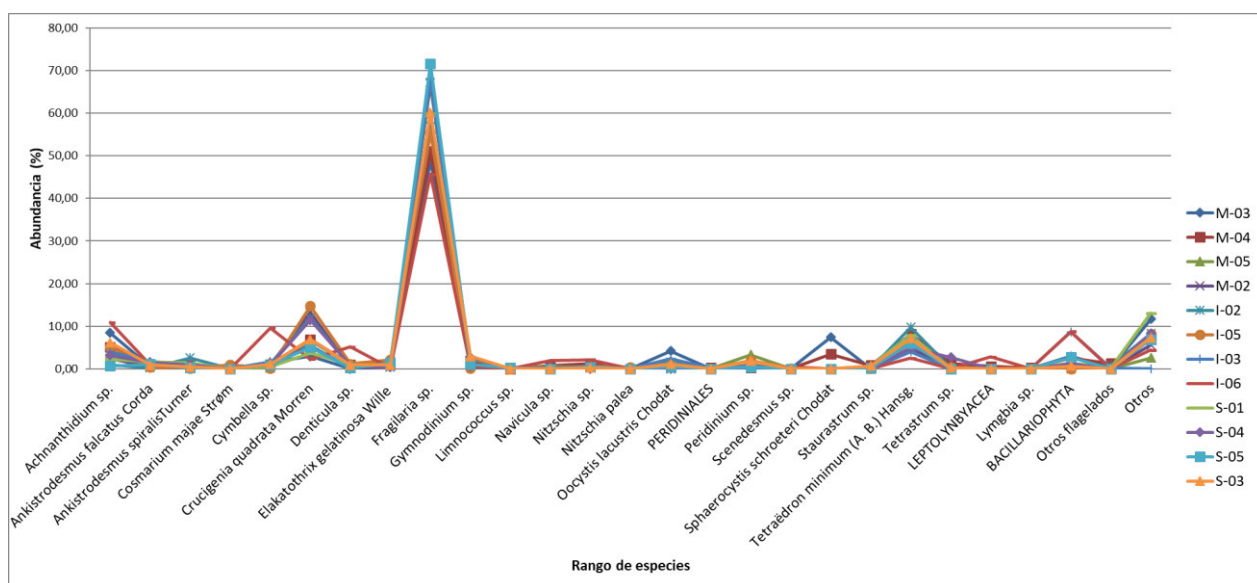


Figura 20. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo de la laguna La Viuda, abril - 2017. *Fragilaria* sp. fue la especie más abundante en todas las estaciones. (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior)

Los análisis de los índices de diversidad alfa para el mes de abril-2017 indicaron que

hubo una mayor riqueza en las estaciones M-04 (2.82), M-03 (2.35) e I-05 (2.80). La mayor diversidad de especies se presentó en las estaciones M-04, M-03, I-05 e I-06 (los índices de diversidad de Shannon-Wiener fueron: M-04 (2.87), M-03 (2.64), I-05 (2.33) e I-06 (2.82); y los índices de diversidad de Simpson fueron M-04 (0.72), M-03 (0.73), I-05 (0.66) e I-06 (0.75)). El índice de dominancia de Simpson indicó valores más bajos en las estaciones M-03 (0.27), M-04 (0.28), I-05 (0.34) e I-06 (0.25), la tendencia de la equitatividad fue demostrada por el índice de Pielou: M-03 (0.68), M-04 (0.68) e I-06 (0.72) (Tabla 11).

Tabla 11. Índices biológicos de diversidad alfa para las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en abril -2017, laguna La Viuda.

ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	15	19	15	13	13	19	14	15	15	13	15	15
Índice de Riqueza de Margalef	2,35	2,82	2,12	1,64	1,99	2,80	1,98	1,87	2,20	1,70	2,07	2,06
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,64	2,87	2,05	1,82	2,18	2,33	1,92	2,82	2,25	2,23	2,27	1,75
Índice de Dominancia de Simpson	0,27	0,28	0,46	0,48	0,37	0,34	0,47	0,25	0,39	0,38	0,38	0,52
Índice recíproco Simpson	3,65	3,52	2,19	2,10	2,67	2,91	2,11	4,08	2,59	2,63	2,61	1,91
Índice de Diversidad de Simpson	0,73	0,72	0,54	0,52	0,63	0,66	0,53	0,75	0,61	0,62	0,62	0,48
Índice de Pielou	0,68	0,68	0,52	0,49	0,59	0,55	0,50	0,72	0,57	0,60	0,58	0,45

La evaluación fitoplanctónica en julio-2017 mostró la mayor abundancia de las clorofitas en las estaciones de muestreo, excepto en I-05 donde predominaron las diatomeas (73.84%) frente a un 22.39 % de clorofitas (Figura 21).

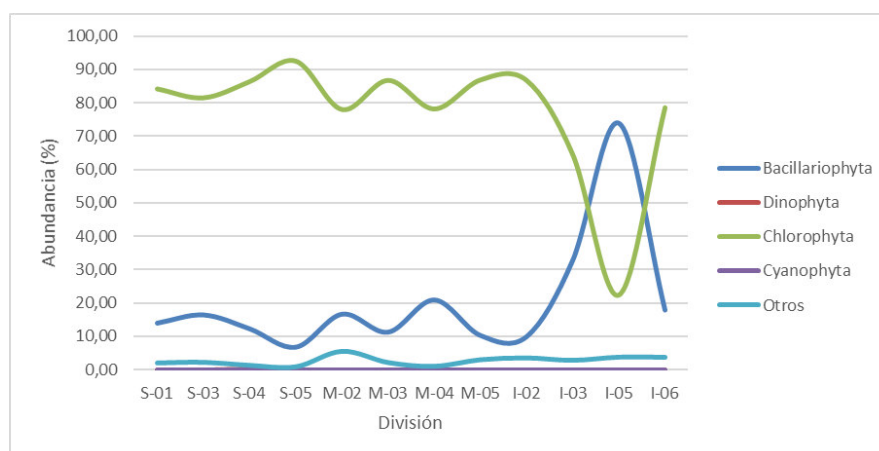


Figura 21. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en julio – 2017, la laguna La Viuda.

En la diversidad genérica del fitoplancton de la laguna La Viuda para el mes de julio-2017 se observó que la especie más abundante fue *Sphaerocystis Schroeteri* en todas las estaciones, la cual estuvo entre el 18.27 % y 79.50 % de abundancia (Figura 22).

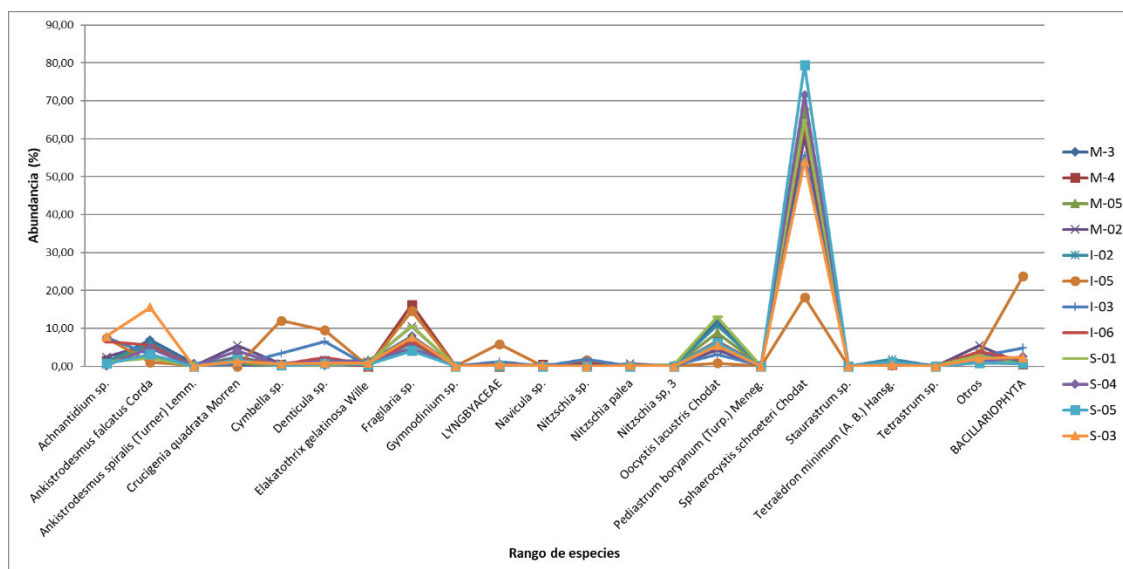


Figura 22. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en julio-2017, laguna La Viuda. La clorofita *Sphaerocystis schroeteri* fue la especie más abundante en todas las estaciones.

Los análisis de los índices de diversidad alfa para el mes de julio-2017 indicaron que los índices de riqueza estuvieron por debajo de la zona con mediana diversidad. La mayor diversidad se observó en la estación I-05 (Diversidad de Shannon-Wiener de 3.04 y Diversidad de Simpson de 0.85). El menor valor de los índices de diversidad correspondió a la estación S-05 (Diversidad de Shannon-Wiener de 1.33 y Diversidad de Simpson de 0.36). El índice de dominancia de Simpson tuvo el valor más bajo en la estación S-05 (0.64). El índice de Pielou en S-05 fue de 0.38 indicando una disminución de la equitatividad (Tabla 12).

Tabla 12. Índices biológicos de diversidad alfa para las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en julio -2017, Laguna La Viuda.

ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	13	12	11	11	12	11	13	12	13	14	13	11
Índice de Riqueza de Margalef	1,60	1,44	1,43	1,42	1,61	1,33	1,67	1,61	1,77	1,80	1,74	1,36
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	1,87	1,90	1,81	2,16	2,00	3,04	2,47	2,07	1,84	1,78	2,30	1,33
Índice de Dominancia de Simpson	0,45	0,43	0,49	0,39	0,43	0,15	0,33	0,42	0,45	0,52	0,33	0,64
Índice recíproco Simpson	2,21	2,30	2,05	2,56	2,33	6,85	3,01	2,37	2,21	1,92	3,01	1,56
Índice de Diversidad de Simpson	0,55	0,57	0,51	0,61	0,57	0,85	0,67	0,58	0,55	0,48	0,67	0,36
Índice de Pielou	0,50	0,53	0,52	0,62	0,56	0,88	0,67	0,58	0,50	0,47	0,62	0,38

La evaluación del fitoplancton en noviembre-2017 mostró la mayor abundancia de clorofitas en todas las estaciones de muestreo, entre un 63.59 % a 96.92% (Figura 23).

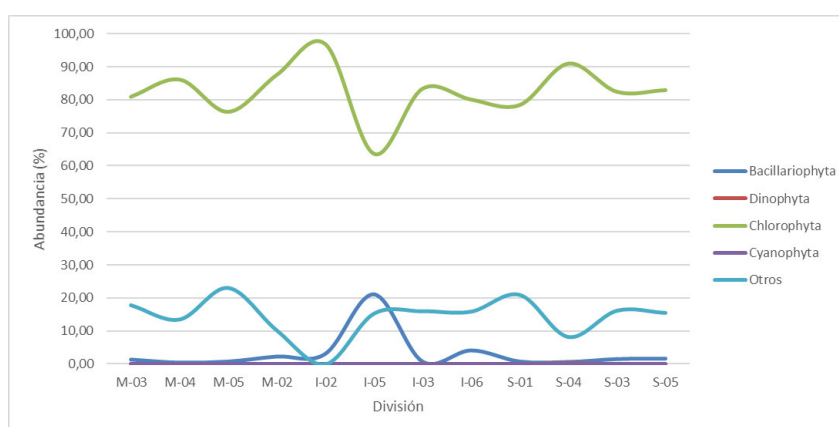


Figura 23. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en noviembre – 2017, la laguna La Viuda.

En la diversidad genérica del fitoplancton de la laguna La Viuda para el mes de noviembre-2017 se observó que la especie más abundante fue *Oocystis lacustris* en todas las estaciones en un rango de 28.80 % y 60 % de abundancia; seguido de *Elakatothrix gelatinosa* Wille que estuvo en un rango de abundancia entre 15.78 % y 47.90 % (Figura 24).

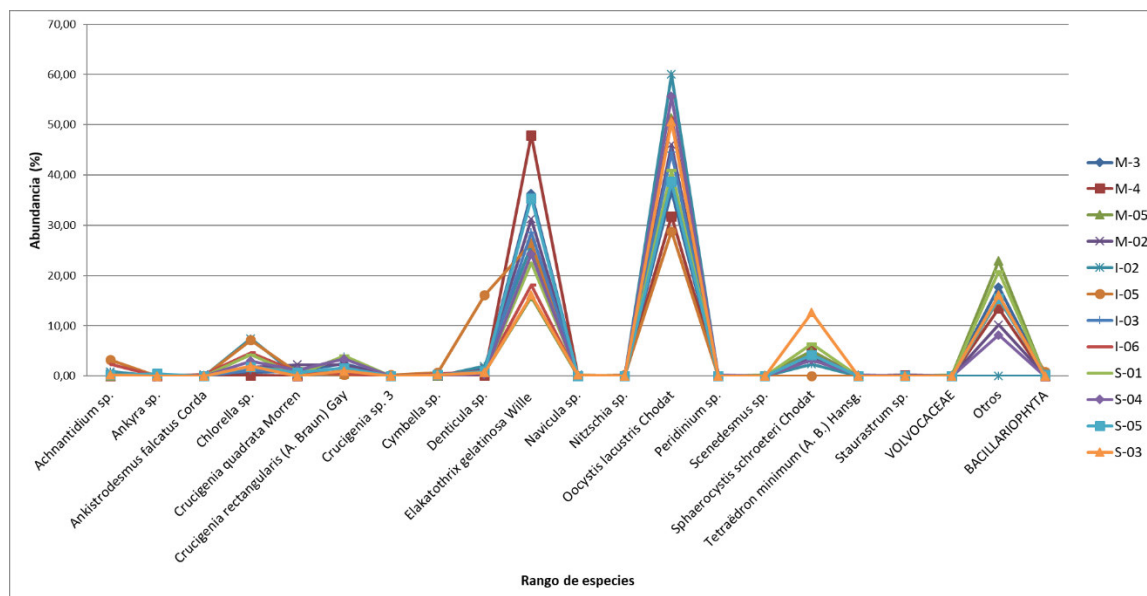


Figura 24. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en julio – 2017, laguna La Viuda. *Oocystis lacustris* fue la más abundante en todas las estaciones seguido de *Elakatothrix gelatinosa* Wille.

Los análisis de los índices de diversidad alfa para el mes de noviembre-2017 indicaron que los índices de riqueza estuvieron por debajo de la zona con mediana diversidad. La mayor diversidad se observó en la estación I-05 (Diversidad de Shannon-Wiener de 2.52 y Diversidad de Simpson de 0.79). El índice de dominancia de Simpson indicó el valor más bajo en la estación I-05 (0.21). El índice de Pielou en I-05 fue de 0.76 lo que indica una tendencia a la equitatividad (Tabla 13).

Tabla 13. Índices biológicos de diversidad alfa para las doce estaciones de muestreo (S=estaciones del estrato superior, M=estaciones del estrato medio e I=estaciones del estrato inferior) en noviembre -2017, Laguna La Viuda.

ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	8	8	9	10	8	10	8	12	8	10	9	10
Índice de Riqueza de Margalef	0,82	0,85	0,98	1,12	0,86	1,10	0,86	1,29	0,84	1,13	1,04	1,13
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,02	1,78	1,94	2,08	1,62	2,52	2,03	2,15	2,19	1,90	2,02	2,08
Índice de Dominancia de Simpson	0,30	0,35	0,34	0,32	0,43	0,21	0,31	0,33	0,27	0,38	0,32	0,30
Índice recíproco Simpson	3,32	2,85	2,90	3,10	2,30	4,79	3,24	3,07	3,71	2,64	3,08	3,32
Índice de Diversidad de Simpson	0,70	0,65	0,66	0,68	0,57	0,79	0,69	0,67	0,73	0,62	0,68	0,70
Índice de Pielou	0,67	0,59	0,61	0,63	0,54	0,76	0,68	0,60	0,73	0,57	0,64	0,63



## 2. Estimación de la Incertidumbre cualitativa

### 2.1. Incertidumbre cualitativa de la División

#### Evaluación teórica

Los resultados de la evaluación teórica de los tres analistas evaluados: Analista 1, Analista 2 y Analista 3 nos indican que en la primera evaluación teórica se observa un alto porcentaje de aprobación para el reconocimiento de diatomeas (100-98.6%), mientras que el más bajo porcentaje de aprobación fue para los dinoflagelados (90-76.6%) (Tabla 14). En la 2da evaluación teórica, todos los analistas fueron capaces de alcanzar un 100% de aprobación (Tabla 15), con este indicador pasaron a ser evaluados de manera práctica para calcular la incertidumbre cualitativa.

Tabla 14. Porcentaje de puntaje aprobado del 1er examen teórico, los analistas 1 y 2 no alcanzan el 100% de aprobación.

Division	Cyanophyta		Bacillariophyta		Dinophyta		Chlorophyta	
Analistas	Total	Porcentaje (%)	Total	Porcentaje (%)	Total	Porcentaje (%)	Total	Porcentaje (%)
1	45	90	49,3	98,6	39	78	45	90
2	35	70	46,3	92,6	38,3	76,6	42,5	85
3	50	100	50	100	45	90	50	100

Tabla 15. Porcentaje de puntaje aprobado del 2do examen teórico, todos los analistas presentan un 100 % de aprobación

Division	Cyanophyta		Bacillariophyta		Dinophyta		Chlorophyta	
Analistas	Total	Porcentaje (%)	Total	Porcentaje (%)	Total	Porcentaje (%)	Total	Porcentaje (%)
1	50	100	50	100	50	100	50	100
2	50	100	50	100	50	100	50	100
3	50	100	50	100	50	100	50	100

#### Evaluación práctica

Los 15 organismos evaluados para División se presentan en la Figura 25 y fueron: **Clorofitas:** *Sphaerocystis* sp. (2,98 µm de largo x 2.98 µm de ancho), *Crucigenia quadrata* (6.91 µm de largo x 6.91 µm de ancho), *Tetraedron minimun* (9,88 x 7.90 µm de largo), *Oocystis lacustris*. (14,88 µm de largo x 9.88 µm de ancho), *Elakatothrix* sp. (17,86 µm de largo x 5.93 de µm largo), *Scenedesmus* sp. (17.78

µm de largo x 13.83 µm de ancho), *Crucigenia rectangularis* (13.83 µm de largo x 8.89 µm de ancho), *Ankistrodesmus* sp. (59,56 µm de largo),

**Dinoflagelados:** *Gymnodinium* sp. (16.86 µm de largo x 15.80 µm de ancho), *Peridinium* sp. (24.80 µm de largo x 19.75 µm de ancho).

**Diatomeas:** *Denticula* sp. (24,80 µm de largo x 6.91 de ancho), *Navicula* sp. 2 (35,71 µm de largo x 6.91 de ancho), *Nitzschia* sp. (41,66 µm de largo x 4.94 µm de largo), *Cymbella* sp. (59,52 µm de largo x 14.81 µm de ancho), *Epithemia* sp. (56,54 µm de largo x 13.83 µm de ancho).

Los 30 campos numerados para evaluar las tres divisiones se muestran en la tabla 16.

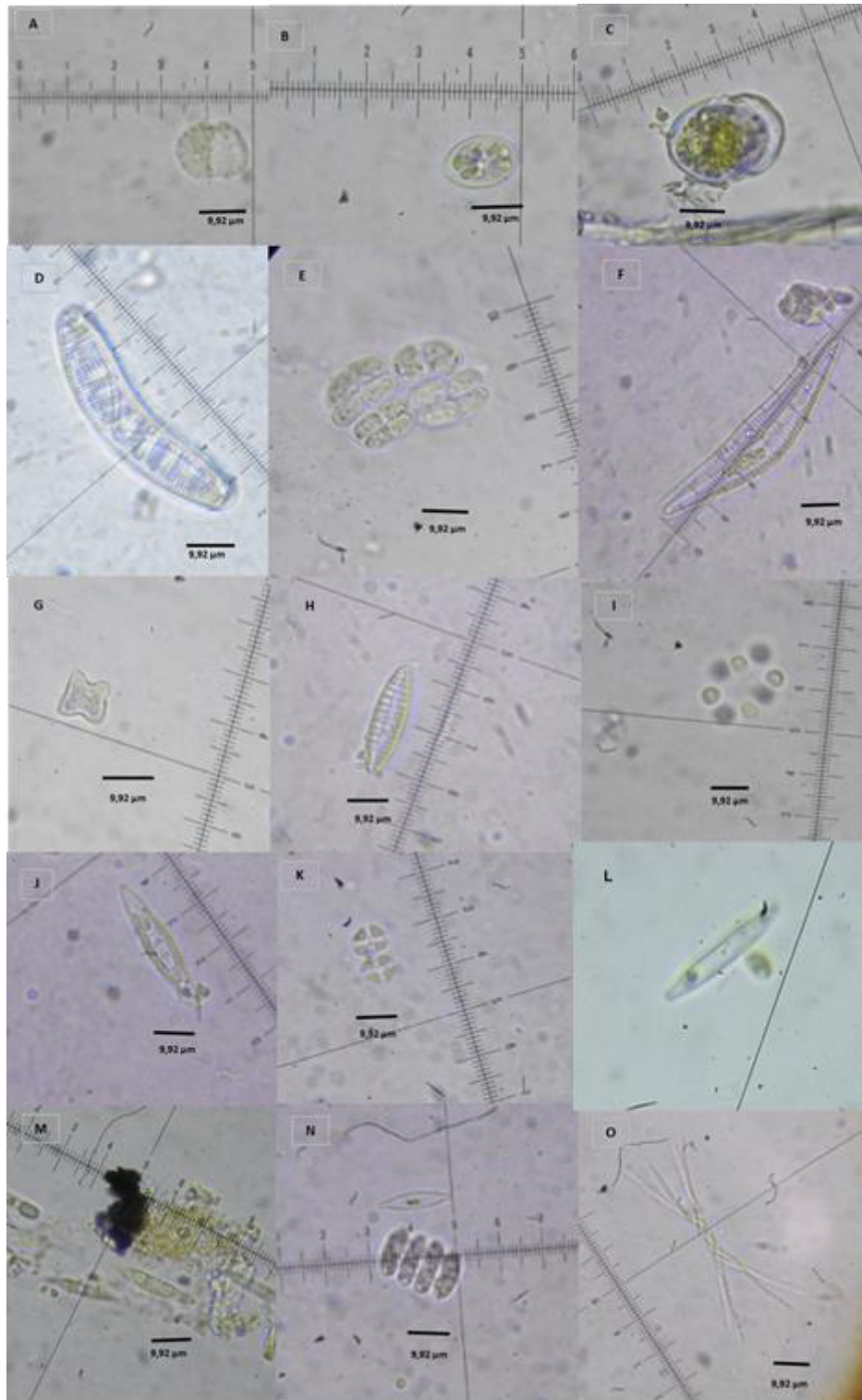


Figura 25. A. *Gymnodinium* sp., B. *Oocystis lacustris*. C. *Peridium* sp. D. *Epithemia* sp. E. *Crucigenia rectangularis*, F. *Cymbella* sp. G. *Tetraedron minimum*. H. *Denticula* sp. I. *Sphaerocystis* sp. J. *Navicula* sp. 2, K. *Crucigenia quadrata*. L. *Nitzschia* sp 1. M. *Elakatothrix gelatinosa*. N. *Scenedesmus* sp. O. *Ankistrodesmus spiralis*

Tabla 16. Lista de códigos para las láminas (L) y campos evaluados (C) de los organismos fitoplanctónicos en la estimación de la incertidumbre cualitativa del nivel taxonómico de División.

Lamina	Dinoflagelados		Clorofitas		Diatomeas	
	Código	Organismo	Código	Organismo	Código	Organismo
1	L1C3	<i>Peridinium</i> sp.	L1C1	<i>Oocystis lacustris</i>	L14C2	<i>Navicula</i> sp.1
2	L1C4	<i>Peridinium</i> sp.	L1C5	<i>Oocystis lacustris</i>	L14C3	<i>Navicula</i> sp.1
3	L1C5	<i>Peridinium</i> sp.	L1C6	<i>Oocystis lacustris</i>	L14C6	<i>Navicula</i> sp.1
4	L1C6	<i>Peridinium</i> sp.	L2C1	<i>Oocystis lacustris</i>	L15C5	<i>Navicula</i> sp.1
5	L2C1	<i>Peridinium</i> sp.	L2C2	<i>Oocystis lacustris</i>	L15C6	<i>Navicula</i> sp.1
6	L2C4	<i>Peridinium</i> sp.	L3C2	<i>Tetraedron minimum</i>	L17C2	<i>Navicula</i> sp.1
7	L2C5	<i>Peridinium</i> sp.	L3C3	<i>Tetraedron minimum</i>	L14C2	<i>Denticula</i> sp.
8	L3C1	<i>Peridinium</i> sp.	L3C4	<i>Tetraedron minimum</i>	L15C2	<i>Denticula</i> sp.
9	L3C2	<i>Peridinium</i> sp.	L4C3	<i>Tetraedron minimum</i>	L15C3	<i>Denticula</i> sp.
10	L3C4	<i>Peridinium</i> sp.	L4C4	<i>Tetraedron minimum</i>	L15C4	<i>Denticula</i> sp.
11	L3C5	<i>Peridinium</i> sp.	L2C3	<i>Crucigenia rectangularis</i>	L15C6	<i>Denticula</i> sp.
12	L4C1	<i>Peridinium</i> sp.	L4C4	<i>Crucigenia rectangularis</i>	L24C3	<i>Denticula</i> sp.
13	L4C2	<i>Peridinium</i> sp.	L5C1	<i>Crucigenia rectangularis</i>	L24C3	<i>Epithemia</i> sp.
14	L4C3	<i>Peridinium</i> sp.	L23C7	<i>Crucigenia rectangularis</i>	L14C4	<i>Epithemia</i> sp.
15	L5C3	<i>Peridinium</i> sp.	L25C1	<i>Crucigenia rectangularis</i>	L14C6	<i>Epithemia</i> sp.
16	L1C2	<i>Gymnodinium</i> sp	L17C4	<i>Crucigenia quadrata</i>	L27C1	<i>Epithemia</i> sp.
17	L1C3	<i>Gymnodinium</i> sp	L25C3	<i>Crucigenia quadrata</i>	L24C6	<i>Epithemia</i> sp.
18	L2C2	<i>Gymnodinium</i> sp	L26C1	<i>Crucigenia quadrata</i>	L25C5	<i>Epithemia</i> sp.
19	L2C3	<i>Gymnodinium</i> sp	L33C2	<i>Crucigenia quadrata</i>	L27C3	<i>Nitzschia</i> sp
20	L2C4	<i>Gymnodinium</i> sp	L34C8	<i>Crucigenia quadrata</i>	L15C3	<i>Nitzschia</i> sp
21	L2C5	<i>Gymnodinium</i> sp	L4C3	<i>Ankistrodesmus spiralis</i>	L15C4	<i>Nitzschia</i> sp
22	L3C4	<i>Gymnodinium</i> sp	L4C4	<i>Ankistrodesmus spiralis</i>	L15C7	<i>Nitzschia</i> sp
23	L3C5	<i>Gymnodinium</i> sp	L5C6	<i>Ankistrodesmus spiralis</i>	L17C4	<i>Nitzschia</i> sp
24	L4C4	<i>Gymnodinium</i> sp	L6C1	<i>Ankistrodesmus spiralis</i>	L21C5	<i>Nitzschia</i> sp
25	L4C5	<i>Gymnodinium</i> sp	L14C1	<i>Ankistrodesmus spiralis</i>	L20C6	<i>Cymbella</i> sp.
26	L6C3	<i>Gymnodinium</i> sp	L5C2	<i>Elakatothrix gelatinosa</i>	L14C2	<i>Cymbella</i> sp.
27	L6C4	<i>Gymnodinium</i> sp	L6C2	<i>Elakatothrix gelatinosa</i>	L14C3	<i>Cymbella</i> sp.
28	L7C1	<i>Gymnodinium</i> sp	L21C6	<i>Elakatothrix gelatinosa</i>	L14C4	<i>Cymbella</i> sp.
29	L10C1	<i>Gymnodinium</i> sp	L37C14	<i>Elakatothrix gelatinosa</i>	L14C5	<i>Cymbella</i> sp.
30	L13C1	<i>Gymnodinium</i> sp	L37C16	<i>Elakatothrix gelatinosa</i>	L14C6	<i>Cymbella</i> sp.

#### Resultados de la Incertidumbre cualitativa de la División de fitoplancton:

Los resultados de las probabilidades obtenidas para calcular la incertidumbre cualitativa según Pulido *et al* (2003) para la identificación hasta División Dinophyta, Bacillariophyta y Chlorophyta para cada analista se muestran en los anexos 15, 16, 17, 18, 19, 20 y 21.

En la Figura 26, el analista 1, obtuvo una incertidumbre cualitativa para dinoflagelados de (0.62-0.71) en la primera evaluación, en la segunda evaluación fue de (0.98-1), y en la 3ra evaluación la incertidumbre cualitativa fue de 1.

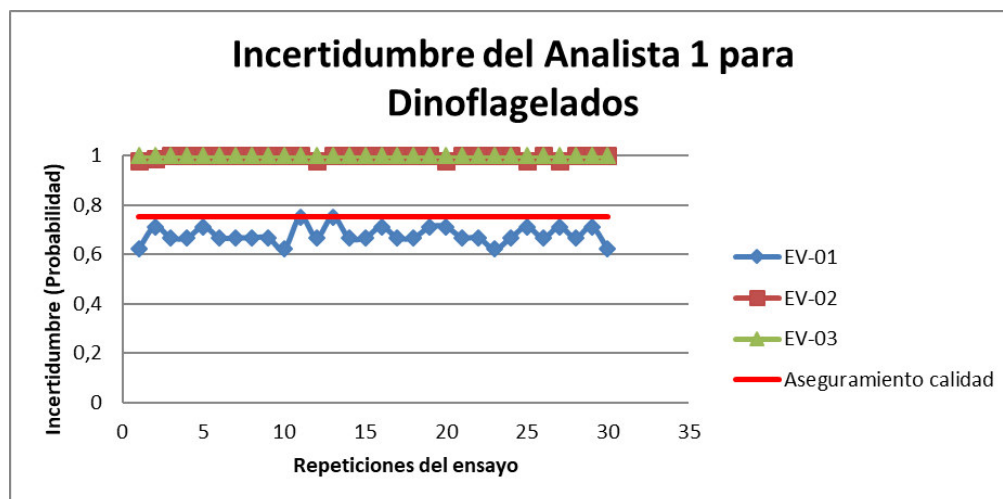


Figura 26. Incertidumbre cualitativa del analista 1 para el reconocimiento de la División Dinophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

En la Figura 27, el Analista 1, obtuvo una incertidumbre cualitativa para diatomeas de (0.95-0.97) en la primera evaluación, en la segunda y tercera evaluación la incertidumbre fue de 1.

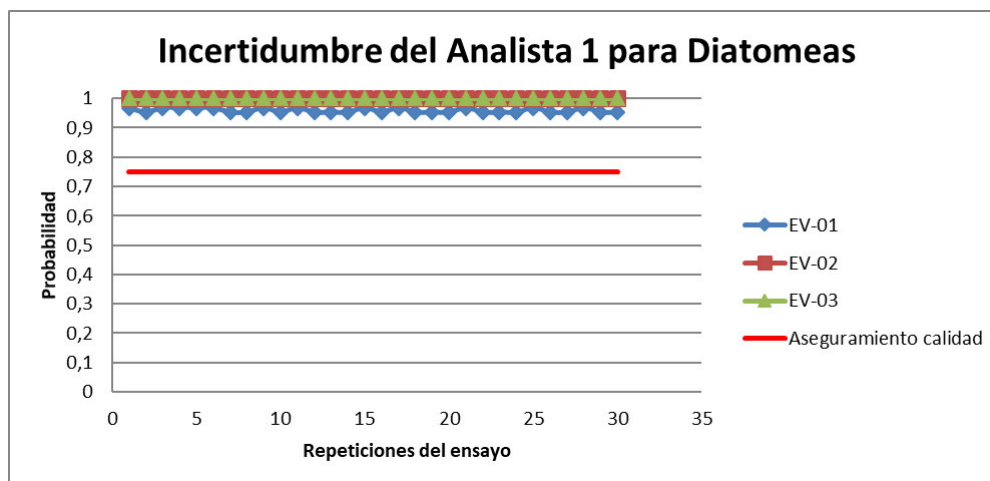


Figura 27. Incertidumbre cualitativa del analista 1 para el reconocimiento de la División Bacillariophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

En la Figura 28, el analista 1, obtuvo una incertidumbre cualitativa para las clorofitas de (0.43-0.67) en la primera evaluación, en la segunda evaluación fue de (0.95-0.99), y en la tercera evaluación la incertidumbre fue de 1.

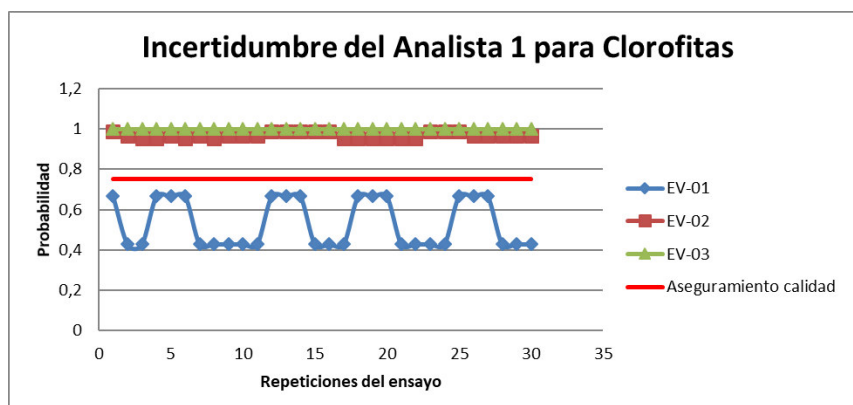


Figura 28. Incertidumbre cualitativa del analista 1 para el reconocimiento de la División Chlorophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

En la Figura 29, el Analista 2, obtuvo una incertidumbre cualitativa para dinoflagelados de (0.62-0.75) en la primera evaluación, en la segunda evaluación fue de (0.98-1), y en la 3ra evaluación la incertidumbre cualitativa fue de 1.

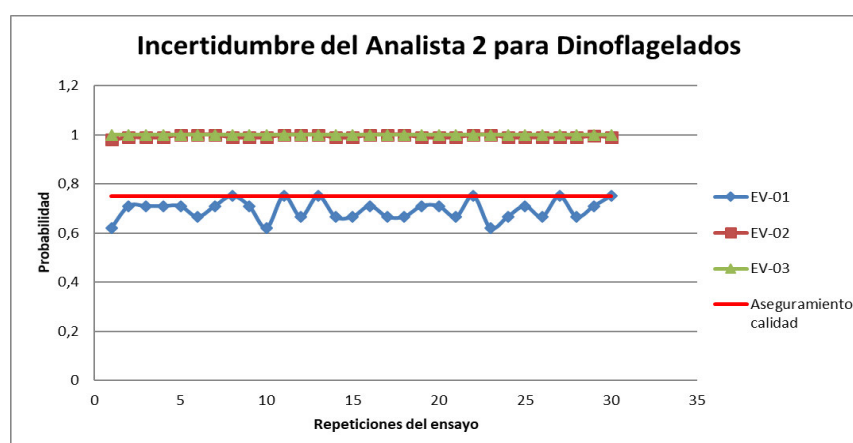


Figura 29. Incertidumbre cualitativa del analista 2 para el reconocimiento de la División Dinophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

En la Figura 30, el Analista 2, obtuvo una incertidumbre cualitativa para diatomeas de (0.95-0.97) en la primera evaluación, en la segunda y tercera evaluación la incertidumbre fue de 1.

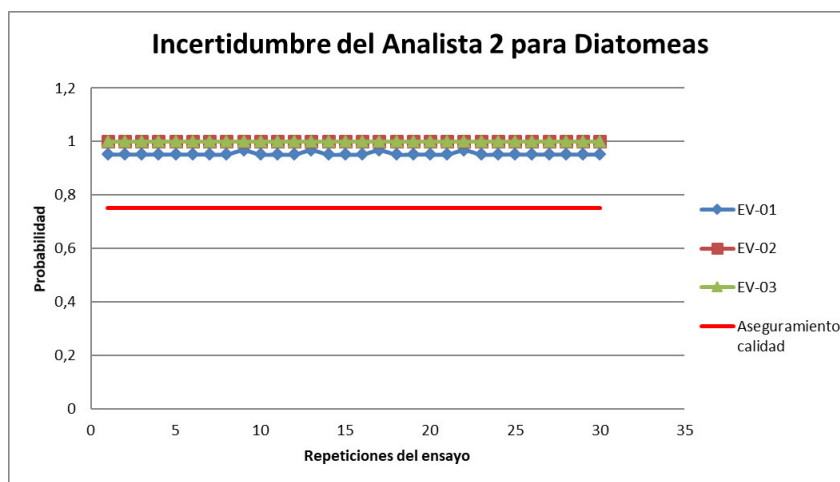


Figura 30. Incertidumbre cualitativa del analista 2 para el reconocimiento de la División Bacillariophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

En la Figura 31, el analista 2, obtuvo una incertidumbre cualitativa para Chlorophyta de (0.43-0.67) en la primera evaluación, en la segunda evaluación fue de (0.86), y en la tercera evaluación la incertidumbre fue de 1.

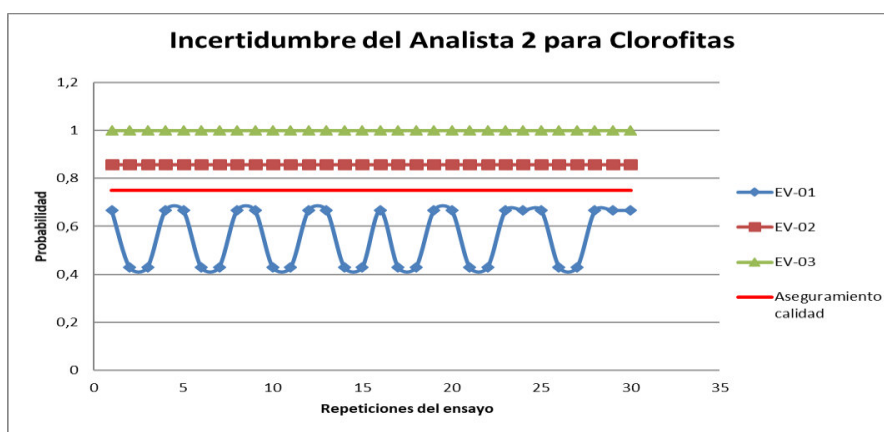


Figura 31. Incertidumbre cualitativa del analista 2 para el reconocimiento de la División Chlorophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

En la Figura 32-34, el analista 3, obtuvo una incertidumbre cualitativa para dinoflagelados, diatomeas y Clorofitas obtuvo una incertidumbre cualitativa de 1.

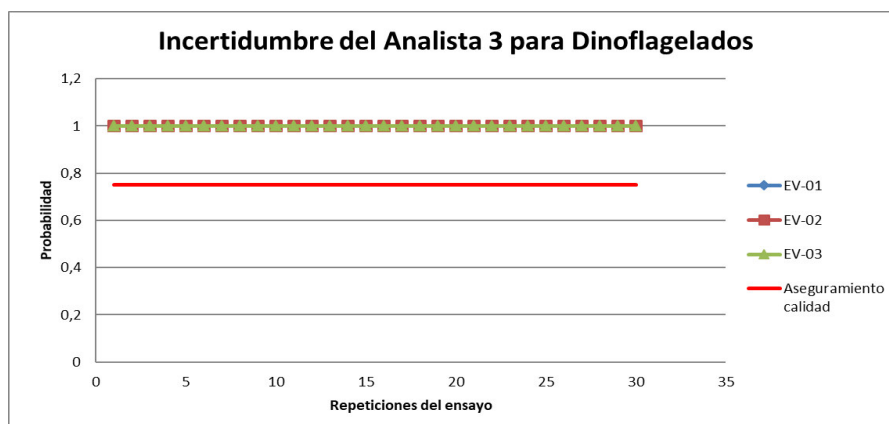


Figura 32. Incertidumbre cualitativa del analista 3 para el reconocimiento de la División Dinophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

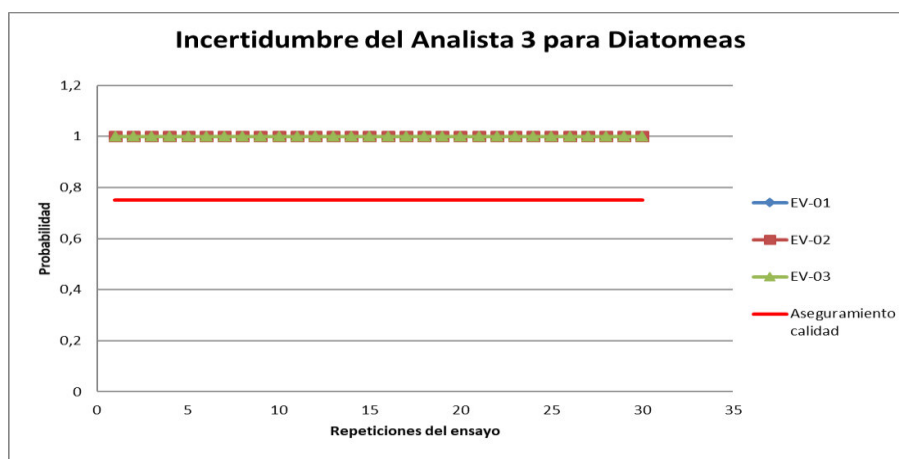


Figura 33. Incertidumbre cualitativa del analista 3 para el reconocimiento de la División Bacillariophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).



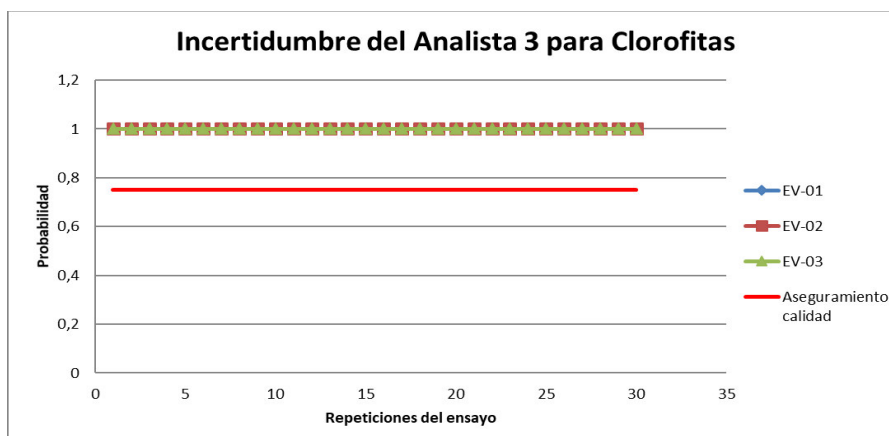


Figura 34. Incertidumbre cualitativa del analista 3 para el reconocimiento de la División Chlorophyta de los organismos aislados de la laguna La Viuda (línea roja=Aseguramiento calidad; EV1=evaluación 1; EV2= evaluación 2 y EV3=evaluación 3).

## 2.2. Incertidumbre cualitativa del género

### Examen teórico

Los resultados de la evaluación teórica de los tres analistas evaluados: Analista 1, Analista 2 y Analista 3 fueron (Tabla 17 y 18), en la primera evaluación teórica se observa un alto porcentaje de aprobación para el reconocimiento de géneros de fitoplancton a evaluar (80-100%), en el segundo examen se alcanzó el 100% de aprobación.

### Examen práctico

Los organismos evaluados fueron: *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. los 30 campos numerados para evaluar la incertidumbre cualitativa del género se muestran en la tabla 19.

Tabla 17. Porcentaje de puntaje aprobado para el primer examen teórico. Los analistas 1 y 2 no alcanzan el 100 % del porcentaje de aprobación

Género	<i>Oocystis lacustris</i>		<i>Nitzschia</i> sp.	
Analistas	Total	Porcentaje (%)	Total	Porcentaje (%)
1	10	100	9	90
2	10	100	8	80
3	10	100	10	100

Tabla 18. Porcentaje de puntaje aprobado para el primer examen teórico. Todos los analistas alcanzan el 100 % del porcentaje de aprobación

Género	<i>Oocystis lacustris</i>		<i>Nitzschia</i> sp.	
Analistas	Total	Porcentaje (%)	Total	Porcentaje (%)
1	10	100	10	100
2	10	100	10	100
3	10	100	10	100

Tabla 19. Lista de códigos para las láminas (L) y campos evaluados (C) de los organismos fitoplanctónicos en la estimación de la incertidumbre cualitativa del nivel taxonómico de División.

Lámina	Código	Organismo	Código	Organismo
1	L1C1	<i>Oocystis lacustris</i>	L15C3	<i>Nitzschia</i> sp
2	L1C5	<i>Oocystis lacustris</i>	L15C4	<i>Nitzschia</i> sp
3	L1C6	<i>Oocystis lacustris</i>	L15C7	<i>Nitzschia</i> sp
4	L2C1	<i>Oocystis lacustris</i>	L17C4	<i>Nitzschia</i> sp
5	L2C2	<i>Oocystis lacustris</i>	L21C5	<i>Nitzschia</i> sp
6	L2C3	<i>Oocystis lacustris</i>	L22C6	<i>Nitzschia</i> sp
7	L2C4	<i>Oocystis lacustris</i>	L26C7	<i>Nitzschia</i> sp
8	L2C5	<i>Oocystis lacustris</i>	L27C3	<i>Nitzschia</i> sp
9	L3C2	<i>Oocystis lacustris</i>	L27C5	<i>Nitzschia</i> sp
10	L3C3	<i>Oocystis lacustris</i>	L7C4	<i>Nitzschia</i> sp
11	L3C4	<i>Oocystis lacustris</i>	L7C6	<i>Nitzschia</i> sp
12	L3C6	<i>Oocystis lacustris</i>	L7C7	<i>Nitzschia</i> sp
13	L4C2	<i>Oocystis lacustris</i>	L7C9	<i>Nitzschia</i> sp
14	L4C3	<i>Oocystis lacustris</i>	L8C3	<i>Nitzschia</i> sp
15	L4C4	<i>Oocystis lacustris</i>	L8C4	<i>Nitzschia</i> sp
16	L4C5	<i>Oocystis lacustris</i>	L9C4	<i>Nitzschia</i> sp
17	L5C1	<i>Oocystis lacustris</i>	L9C8	<i>Nitzschia</i> sp
18	L5C2	<i>Oocystis lacustris</i>	L10C1	<i>Nitzschia</i> sp
19	L5C3	<i>Oocystis lacustris</i>	L10C2	<i>Nitzschia</i> sp
20	L5C6	<i>Oocystis lacustris</i>	L10C3	<i>Nitzschia</i> sp
21	L6C2	<i>Oocystis lacustris</i>	L10C4	<i>Nitzschia</i> sp
22	L6C3	<i>Oocystis lacustris</i>	L10C5	<i>Nitzschia</i> sp
23	L6C4	<i>Oocystis lacustris</i>	L10C6	<i>Nitzschia</i> sp
24	L7C1	<i>Oocystis lacustris</i>	L11C1	<i>Nitzschia</i> sp
25	L8C1	<i>Oocystis lacustris</i>	L11C2	<i>Nitzschia</i> sp
26	L9C1	<i>Oocystis lacustris</i>	L11C3	<i>Nitzschia</i> sp
27	L10C1	<i>Oocystis lacustris</i>	L11C4	<i>Nitzschia</i> sp
28	L11C1	<i>Oocystis lacustris</i>	L11C5	<i>Nitzschia</i> sp
29	L12C1	<i>Oocystis lacustris</i>	L11C6	<i>Nitzschia</i> sp
30	L13C1	<i>Oocystis lacustris</i>	L11C7	<i>Nitzschia</i> sp

### Resultados de la Incertidumbre cualitativa para género

Los resultados de la 1ra evaluación para el cálculo de la incertidumbre cualitativa del género nos indica que el género de *Oocystis lacustris* presentó la incertidumbre más baja que *Nitzschia* sp. para el Analista 2 (0.93-0.95), los otros analistas obtuvieron una incertidumbre de 1. La incertidumbre para *Nitzschia* sp fue de 1 para los tres analistas (Tabla 20).

En la segunda evaluación todos los analistas presentaron una incertidumbre de 1 para el reconocimiento e identificación de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp (Tabla 21).

Tabla 20. Incertidumbre cualitativa para la identificación de género (1era evaluación). *Oocystis lacustris* presentó una incertidumbre de 0.93-0.95 para el analista 2.

<b>Géneros evaluados</b>	<b>Incertidumbre cualitativa</b>	
	<i>Oocystis lacustris</i>	<i>Nitzschia</i> sp
Analista 1	1	1
Analista 2	0,93-0,95	1
Analista 3	1	1

Tabla 21. Incertidumbre cualitativa para la identificación de género (2da evaluación), todos los analistas presentaron una incertidumbre de 1.

<b>Géneros evaluados</b>	<b>Incertidumbre cualitativa</b>	
	<i>Oocystis lacustris</i>	<i>Nitzschia</i> sp
Analista 1	1	1
Analista 2	1	1
Analista 3	1	1

### 3. Estimación de la incertidumbre cuantitativa

#### 3.1. Estimación de la incertidumbre del Muestreo.

##### 3.1.1 Estimación de la incertidumbre de muestreo para muestra inoculada con *Oocystis lacustris* (*in vitro*)

Los resultados del recuento para dos niveles de concentración CI-1 y CI-2 se presentan en la tabla 22.

Tabla 22. Datos de concentración celular para *Oocystis lacustris* en dos niveles: baja concentración CI-1 y alta concentración CI-2 (M-1, M-2, M-3, M-4, M-5 y M-6 son las muestras primarias de cada punto objetivo de muestreo, D1 y D2 son los análisis de duplicado de las muestras primarias).

Organismo evaluado: <i>Oocystis lacustris</i>			Puntos de muestreo	
			CI-1 (cel/mL)	CI-2 (cel/mL)
Análisis	M1	D1	2,09	1783,43
		D2	0,00	1329,31
	M2	D1	1,87	2253,54
		D2	3,36	2221,35
	M3	D1	1,68	1314,82
		D2	0,00	1156,62
	M4	D1	0,82	1440,61
		D2	1,63	1373,55
	M5	D1	2,26	2257,72
		D2	0,19	1757,22
	M6	D1	1,59	1067,77
		D2	2,39	1216,44

Los datos presentaron normalidad (Anexo 22). Los resultados del ANOVA de una vía para el cálculo de la incertidumbre del análisis y la incertidumbre del muestreo se presentan en la tabla 23 y 24.

Tabla 23. Análisis de ANOVA para el cálculo de la desviación estándar de los análisis de las muestras duplicadas y los análisis duplicados (diseño de réplica de dos divisiones) para *Oocystis lacustris*. Muestras sextuplicadas (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para *Oocystis lacustris* (cel/mL) y analizadas en duplicados (D1 y D2).

X <sub>ijk</sub> i= 2 objetivos de muestreo,j=6 muestras son tomadas, k=dos submuestreos para análisis																																			
M1D1	M1D2	M2D1	M2D2	M3D1	M3D2	M4D1	M4D2	M5D1	M5D2	M6D1	M6D2	M1	M2	M3	M4	M5	M6			M1	M2	M3	M4	M5	M6										
X <sub>i11</sub>	X <sub>i12</sub>	X <sub>i21</sub>	X <sub>i22</sub>	X <sub>i31</sub>	X <sub>i32</sub>	X <sub>i41</sub>	X <sub>i42</sub>	X <sub>i51</sub>	X <sub>i52</sub>	X <sub>i61</sub>	X <sub>i62</sub>	$\bar{X}_{i1}$	$\bar{X}_{i2}$	$\bar{X}_{i3}$	$\bar{X}_{i4}$	$\bar{X}_{i5}$	$\bar{X}_{i6}$			$2 * D_{i1(\bar{X})}^2$	$2 * D_{i2(\bar{X})}^2$	$2 * D_{i3(\bar{X})}^2$	$2 * D_{i4(\bar{X})}^2$	$2 * D_{i5(\bar{X})}^2$	$2 * D_{i6(\bar{X})}^2$										
2.09	0.00	1.87	3.36	1.68	0.00	0.82	1.63	2.26	0.19	1.59	2.39	1.04	2.61	0.84	1.224	1.2	1.9906			2.180678	1.11473	1.416418	0.333107	2.145541	0.317013										
1783	1329	2254	2221	1315	1157	1441	1374	2258	1757	1068	1216	1556	2237	1236	1407	###	1142.1			103113	518.2102	12514.46	2248.713	125249.4	11051.52										
Promedio				799.59														Suma de los cuadrados de las diferencias dentro de los grupos						254702.80											
Grados de libertad, df <sub>análisis</sub>										12										Varianza del análisis V <sub>análisis</sub>										21225.23					
Desviación estandar del análisis										145.69										RSD <sub>análisis</sub>										18.22 %					

Tabla 24. Cálculo de la desviación estándar del muestreo de las muestras duplicadas y análisis duplicados para *Oocystis lacustris*. Muestras sextuplicadas (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para *Oocystis lacustris* (cel/mL) y analizadas en duplicados (D1 y D2).

$X_{ijk}$ i= 2 objetivos de muestreo, j=6 muestras son tomadas, k=dos submuestreos para análisis																																									
												Promedios						Promedio	$D^2_{i(\bar{X})}$																						
M1D1	M1D2	M2D1	M2D2	M3D1	M3D2	M4D1	M4D2	M5D1	M5D2	M6D1	M6D2	M1	M2	M3	M4	M5	M6																								
$X_{i11}$	$X_{i12}$	$X_{i21}$	$X_{i22}$	$X_{i31}$	$X_{i32}$	$X_{i41}$	$X_{i42}$	$X_{i51}$	$X_{i52}$	$X_{i61}$	$X_{i62}$	$\bar{X}_{i1}$	$\bar{X}_{i2}$	$\bar{X}_{i3}$	$\bar{X}_{i4}$	$\bar{X}_{i5}$	$\bar{X}_{i6}$	$\bar{X}_i$																							
2.09	0.00	1.87	3.36	1.68	0.00	0.82	1.63	2.26	0.19	1.59	2.39	1.04	2.61	0.84	1.224	1.2	1.9906	1.48966	0.198441	1.261872	0.420045	0.070401	0.070441	0.250985																	
1783	1329	2254	2221	1315	1157	1441	1374	2258	1757	1068	1216	1556	2237	1236	1407	###	1142.1	1597.7	1707.797	409277.5	131027.8	36336.36	167914.2	207568.9																	
Promedio												799.59						Suma de cuadrados del muestreo						635890						Suma de los cuadrados de las diferencias dentro de los grupos						254702.80					
																														Grados de libertad, $df_{análisis}$						12					
$df_{muestreo}$												10						Varianza del muestreo $V_{muestreo}$																		21181.87863					
Desviación estandar del muestreo												145.54						RSD <sub>muestreo</sub>																		18.20 %					

Tabla 25. Resultados de los cálculos de ANOVA-incertidumbre de análisis-suma de cuadrados de las diferencias, dentro de los grupos (SSE-análisis) para *Oocystis lacustris*

SSE <sub>análisis</sub>	Grados de libertad ( $df_{análisis}$ )	Varianza, $V_{análisis}$ (cel/mL)	Desviación estandar, $S_{análisis}$ (cel/mL)	Desviación estandar relativa $RSD_{análisis}$ (%)
254702,80	12,00	21225,23	145,69	18,22

Tabla 26. Resultados de los cálculos de ANOVA-incertidumbre de muestreo-suma de cuadrados de las diferencias, dentro de los grupos (SSmuestreo) para *Oocystis lacustris*

SS <sub>muestreo</sub>	Grados de libertad ( $df_{muestreo}$ )	Varianza, $V_{muestreo}$ (cel/mL)	Desviación estandar, $S_{muestreo}$ (cel/mL)	Desviación estandar relativa $RSD_{muestreo}$ (%)
635889,90	10,00	21181,88	145,54	18,20

El cálculo de la incertidumbre expandida del análisis es 36.44 %, la incertidumbre expandida del muestreo fue de 36.4 % y la incertidumbre expandida de la medición fue de 51.51% para *Oocystis lacustris* (Tabla 27).

Tabla 27. Incertidumbre de la medición, muestreo y análisis para *Oocystis*

	Muestreo	Análisis	Medición
Desviación estandar	145,54	145,69	205,93
Incertidumbre $u$ (%)	18,20	18,22	25,75
Incertidumbre expandida $U$ (%) = $2 \cdot u$ con una factor de cobertura de 2 (por ejemplo 95% de confianza)	36,40	36,44	51,51

Los cálculos del RSD para cada nivel de concentración de *Oocystis lacustris*. fue de 70% para el nivel más bajo de concentración CI-1 y de 27.7 % para el nivel más alto de concentración. Asimismo, los resultados del análisis del laboratorio de referencia fueron de 1163 cel/mL para la muestra CI-02 y 1 cel/mL para la muestra CI-01, ambos inoculados con *Oocystis* sp. El Z-score fue de 0.47 para la muestra CI-01 y 0.98 para CI-02 (Tabla 28).

Tabla 28. Resultados del Z-score y RSD para las muestras de mínima concentración (CI-1) y máxima concentración (CI-2) inoculadas con *Oocystis lacustris* (*in vitro*).

Organismo evaluado: <i>Oocystis lacustris</i>			Puntos de muestreo	
			CI-1 (Cel/mL)	CI-2 (Cel/mL)
Análisis	M1	D1	2,09	1783,43
		D2	0,00	1329,31
	M2	D1	1,87	2253,54
		D2	3,36	2221,35
	M3	D1	1,68	1314,82
		D2	0,00	1156,62
	M4	D1	0,82	1440,61
		D2	1,63	1373,55
	M5	D1	2,26	2257,72
		D2	0,19	1757,22
	M6	D1	1,59	1067,77
		D2	2,39	1216,44
Desviación estandar			1,0465679	443,37143
Promedio			1,49	1597,70
RSD			70,264431	27,750622
Z			0,467691	0,9804399

### 3.1.2. Estimación de la incertidumbre de muestreo para muestra inoculada con *Nitzschia* sp (*in vitro*)

Los resultados del recuento para dos niveles de concentración CI-1 y CI-2 se presentan en la Tabla 29.

Tabla 29. Datos de concentración celular para *Nitzschia* sp en dos niveles: baja concentración CI-1 y alta concentración CI-2 (M-1, M-2, M-3, M-4, M-5 y M-6 son las muestras primarias de cada punto objetivo de muestreo, D1 y D2 son los análisis de duplicado de las muestras primarias)

Organismo evaluado: <i>Nitzschia</i> sp.			Puntos de muestreo	
			CI-1 (cel/mL)	CI-2 (cel/mL)
Análisis	M1	D1	1,04	15,15
		D2	0,84	16,53
	M2	D1	0,75	29,88
		D2	0,37	43,90
	M3	D1	0,63	6,54
		D2	0,21	8,00
	M4	D1	0,00	16,56
		D2	0,41	13,53
	M5	D1	1,13	23,97
		D2	0,75	11,79
	M6	D1	0,80	18,69
		D2	0,00	6,45

Los datos presentaron normalidad (Anexo 23). Los resultados del ANOVA de una vía para el cálculo de la incertidumbre del análisis y la incertidumbre del muestreo se presentan en la tabla 30 y 31.



Tabla 30. Análisis de ANOVA para el cálculo de la desviación estándar de los análisis de las muestras duplicadas y los análisis duplicados (diseño de réplica de dos divisiones) para *Nitzschia* sp. Muestras sextuplicadas (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para *Nitzschia* sp. (cel/mL) y analizadas en duplicados (D1 y D2).

$X_{ijk}$ i= 2 objetivos de muestreo,j=6 muestras son tomadas, k=dos submuestreos para análisis																									
M1D1	M1D2	M2D1	M2D2	M3D1	M3D2	M4D1	M4D2	M5D1	M5D2	M6D1	M6D2	M1	M2	M3	M4	M5	M6			M1	M2	M3	M4	M5	M6
$X_{i11}$	$X_{i12}$	$X_{i21}$	$X_{i22}$	$X_{i31}$	$X_{i32}$	$X_{i41}$	$X_{i42}$	$X_{i51}$	$X_{i52}$	$X_{i61}$	$X_{i62}$	$\bar{X}_{i1}$	$\bar{X}_{i2}$	$\bar{X}_{i3}$	$\bar{X}_{i4}$	$\bar{X}_{i5}$	$\bar{X}_{i6}$			$2 * D_{i1}^2(\bar{X})$	$2 * D_{i2}^2(\bar{X})$	$2 * D_{i3}^2(\bar{X})$	$2 * D_{i4}^2(\bar{X})$	$2 * D_{i5}^2(\bar{X})$	$2 * D_{i6}^2(\bar{X})$
1.04	0.84	0.75	0.37	0.63	0.21	0.00	0.41	1.13	0.75	0.80	0.00	0.94	0.56	0.42	0.204	0.9	0.3981			0.02181	0.06967	0.08853	0.08328	0.07107	0.31701
15.15	16.53	29.88	43.90	6.54	8.00	16.56	13.53	23.97	11.79	18.69	6.45	15.8	36.9	7.27	15.05	18	12.57			0.96300	98.33175	1.05655	4.57910	74.10165	74.81902
Promedio				9.08														Suma de los cuadrados de las diferencias dentro de los grupos						254.50	
Grados de libertad, $df_{análisis}$												Varianza del análisis $V_{análisis}$												21.21	
Desviación estandar del análisis												RSD análisis												50.72 %	

Tabla 31. Cálculo de la desviación estándar del muestreo de las muestras duplicadas y análisis duplicados para *Nitzschia* sp. Muestras sextuplicadas (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para *Nitzschia* sp (cel/mL) y analizadas en duplicados (D1 y D2).

Muestras sextuplicadas (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para <i>Nitzschia</i> sp. (cel/ml) y analizadas en duplicados ( D1 y D2). Los cálculos están dados como sigue.																																					
X <sub>ijk</sub> i= 2 objetivos de muestreo,j=6 muestras son tomadas, k=dos submuestreos para análisis																																					
												Promedios						Promedio	D <sup>2</sup> <sub>i(X)</sub>																		
M1D1	M1D2	M2D1	M2D2	M3D1	M3D2	M4D1	M4D2	M5D1	M5D2	M6D1	M6D2	M1	M2	M3	M4	M5	M6																				
X <sub>i11</sub>	X <sub>i12</sub>	X <sub>i21</sub>	X <sub>i22</sub>	X <sub>i31</sub>	X <sub>i32</sub>	X <sub>i41</sub>	X <sub>i42</sub>	X <sub>i51</sub>	X <sub>i52</sub>	X <sub>i61</sub>	X <sub>i62</sub>	$\bar{X}_{i1}$	$\bar{X}_{i2}$	$\bar{X}_{i3}$	$\bar{X}_{i4}$	$\bar{X}_{i5}$	$\bar{X}_{i6}$	$\bar{X}_i$																			
1.04	0.84	0.75	0.37	0.63	0.21	0.00	0.41	1.13	0.75	0.80	0.00	0.94	0.56	0.42	0.204	0.9	0.3981	0.57753	0.131218	0.00031	0.024573	0.139486	0.133229	0.0321858													
15.15	16.53	29.88	43.90	6.54	8.00	16.56	13.53	23.97	11.79	18.69	6.45	15.8	36.9	7.27	15.05	18	12.57	17.582	3.035126	372.7357	106.3737	6.433311	0.089031	25.124377													
Promedio												9,08						Suma de cuadrados del muestreo						342,83	Suma de los cuadrados de las diferencias dentro de los grupos								254,50				
																									Grados de libertad, df <sub>análisis</sub>								12				
df <sub>muestreo</sub>												10						Varianza del muestreo V <sub>muestreo</sub>												6,537475641							
Desviación estandar del muestreo												2.56						RSD <sub>muestreo</sub>												28.16 %							

Tabla 32. Resultados de los cálculos de ANOVA-incertidumbre de análisis-suma de cuadrados de las diferencias, dentro de los grupos (SSE-análisis) para *Nitzschia* sp.

SSE <sub>análisis</sub>	Grados de libertad ( <i>df</i> <sub>análisis</sub> )	Varianza, <i>V</i> <sub>análisis</sub> (cel/mL)	Desviación estandar, <i>S</i> <sub>análisis</sub> (cel/mL)	Desviación estandar relativa <i>RSD</i> <sub>análisis</sub> (%)
254,50	12,00	21,21	4,61	50,72

Tabla 33. Resultados de los cálculos de ANOVA-incertidumbre de muestreo-suma de cuadrados de las diferencias, dentro de los grupos (SSmuestreo) para *Nitzschia* sp.

SS <sub>muestreo</sub>	Grados de libertad ( <i>df</i> <sub>muestreo</sub> )	Varianza, <i>V</i> <sub>muestreo</sub> (cel/mL)	Desviación estandar, <i>S</i> <sub>muestreo</sub> (cel/mL)	Desviación estandar relativa <i>RSD</i> <sub>muestreo</sub> (%)
342,83	10,00	6,54	2,56	28,16

El cálculo de la incertidumbre expandida del análisis es 101.44 %, la incertidumbre expandida del muestreo fue de 56.32 % y la incertidumbre expandida de la medición fue de 116.03% para *Nitzschia* sp. (Tabla 34)

Tabla 34. Incertidumbre de la medición, muestreo y análisis para *Nitzschia* sp.

	Muestreo	Análisis	Medición
Desviación estandar	2,56	4,61	5,27
Incertidumbre <i>u</i> (%)	28,16	50,72	58,01
Incertidumbre expandida <i>U</i> (%) =2* <i>u</i> con una factor de cobertura de 2 (por ejemplo 95% de confianza)	56,32	101,44	116,03

Los cálculos del RSD para cada nivel de concentración de *Nitzschia* sp. fue de 65.48% para el nivel más bajo de concentración CI-1 y de 17.58 % para el nivel más alto de concentración. Asimismo, los resultados del análisis del laboratorio de referencia fueron de 10 cel/mL para la muestra CI-02 y 2 cel/mL para la muestra CI-01, ambos inoculados con *Nitzschia* sp. El Z-score fue de 3.76 para la muestra CI-01 y 0.70 para CI-02 (Tabla 35).

Tabla 35. Resultados del Z-score y RSD para las muestras de mínima concentración (CI-1) y máxima concentración (CI-2) inoculadas con *Nitzschia* sp. (*in vitro*)

Organismo evaluado: <i>Nitzschia</i> sp.			Puntos de muestreo	
			CI-1 (cel/mL)	CI-2 (cel/mL)
Análisis	M1	D1	1,04	15,15
		D2	0,84	16,53
	M2	D1	0,75	29,88
		D2	0,37	43,90
	M3	D1	0,63	6,54
		D2	0,21	8,00
	M4	D1	0,00	16,56
		D2	0,41	13,53
	M5	D1	1,13	23,97
		D2	0,75	11,79
	M6	D1	0,80	18,69
		D2	0,00	6,45
	Desviación estandar		0,378197	10,79324
	Promedio		0,58	17,58
	RSD		65,485	61,38799
	Z		3,761176	0,702477

### 3.1.3. Estimación de la incertidumbre de muestreo para *Oocystis lacustris* en muestra proveniente de campo (*in situ*)

Los resultados del recuento para dos niveles de concentración P-1 y P-2 se presentan en la tabla 36.

Tabla 36. Datos de concentración celular para *Oocystis lacustris* en dos puntos de muestreo: P-1 y P-2, (M-1, M-2, M-3, M-4 son las muestras primarias de cada punto objetivo de muestreo, D1 y D2 son los análisis de duplicado de las muestras primarias.

Organismo evaluado: <i>Oocystis lacustris</i>			Puntos de muestreo	
			P1(ce/mL)	P2(ce/mL)
Análisis	M1	D1	1527,64	950,20
		D2	971,69	2202,58
	M2	D1	950,67	1919,64
		D2	2579,92	1671,39
	M3	D1	1598,46	1341,01
		D2	1986,28	1723,96
	M4	D1	1482,25	1627,68
		D2	1445,78	755,98
Desviación estandar			529,2116577	484,3317083
Promedio			1585,27	1633,78
RSD			33,38301352	29,64486441

Los datos presentaron normalidad (Anexo 24). Los resultados del ANOVA de una vía para el cálculo de la incertidumbre del análisis y la incertidumbre del muestreo se presentan en la tabla 37 y 38

Tabla 37. Análisis de ANOVA para el cálculo de la desviación estándar de los análisis de las muestras duplicadas y los análisis duplicados (diseño de réplica de dos divisiones) para *Oocystis lacustris*. Muestras cuadruplicadas (M1, M2, M3 y M4) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para *Oocystis lacustris* (cel/mL) y analizadas en duplicados (D1 y D2).

X <sub>ijk</sub> i= 2 objetivos de muestreo,j=6 muestras son tomadas, k=dos submuestreos para análisis																
M1D1	M1D2	M2D1	M2D2	M3D1	M3D2	M4D1	M4D2	M1	M2	M3	M4		M1	M2	M3	M4
X <sub>i11</sub>	X <sub>i12</sub>	X <sub>i21</sub>	X <sub>i22</sub>	X <sub>i31</sub>	X <sub>i32</sub>	X <sub>i41</sub>	X <sub>i42</sub>	$\bar{X}_{i1}$	$\bar{X}_{i2}$	$\bar{X}_{i3}$	$\bar{X}_{i4}$		$2 * D_{i1(\bar{X})}^2$	$2 * D_{i2(\bar{X})}^2$	$2 * D_{i3(\bar{X})}^2$	$2 * D_{i4(\bar{X})}^2$
1527,64	971,69	950,67	2579,92	1598,46	1986,28	1482,25	1445,78	1250	1765	1792	1464		154538,6	1327220	75201,24	665,0002
950,2	2202,6	1920	1671,4	1341	1723,96	1627,7	755,982	1576	1796	1532	1192		784226,3	30815,13	73326,09	379928,71
Promedio				1545,95								Suma de los cuadrados de las diferencias dentro de los grupos				2825921,60
Grados de libertad, $df_{\text{análisis}}$								8				Varianza del análisis $V_{\text{análisis}}$				353240,20
Desviación estandar del análisis						594,34				RSD <sub>análisis</sub>						38,4

Tabla 38. Cálculo de la desviación estándar del muestreo de las muestras duplicadas y análisis duplicados para *Oocystis lacustris*. Muestras cuadruplicadas (M1, M2, M3 y M4) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para *Oocystis lacustris* (cel/mL) y analizadas en duplicados (D1 y D2).

X <sub>ijk</sub>	i= 2 objetivos de muestreo,j=4 muestras son tomadas, k=dos submuestreos para análisis																
								Promedios				Promedio					
M1D1	M1D2	M2D1	M2D2	M3D1	M3D2	M4D1	M4D2	M1	M2	M3	M4	$\bar{X}_i$	$D^2_{i(\bar{X})}$				
X <sub>i11</sub>	X <sub>i12</sub>	X <sub>i21</sub>	X <sub>i22</sub>	X <sub>i31</sub>	X <sub>i32</sub>	X <sub>i41</sub>	X <sub>i42</sub>	$\bar{X}_{i1}$	$\bar{X}_{i2}$	$\bar{X}_{i3}$	$\bar{X}_{i4}$						
1527,64	971,69	950,67	2579,92	1598,46	1986,28	1482,25	1445,78	1250	1765	1792	1464	1567,84	101231,8	38989,23	50415,04	10778,6817	
950,2	2202,6	1920	1671,4	1341	1723,96	1627,7	755,982	1576	1796	1532	1192	1524,05	2738,911	73689,45	71,08488	110372,649	
Promedio								Suma de cuadrados del muestreo				388286,839	Suma de los cuadrados de las diferencias dentro de los grupos				2825921,60
													Grados de libertad, $df_{análisis}$				8
$df_{muestreo}$								6				Varianza del muestreo $V_{muestreo}^1$				-144262,8634	
												Varianza del muestreo $V_{muestreo}^1$				0	
Desviacion estandar del muestreo								0,00				RSD <sub>muestreo</sub>				0,00	

<sup>1</sup> La varianza del muestreo es menor a cero. entonces el valor de  $V_{\text{muestreo}}$  es convencionalmente cero

Tabla 39. Resultados de los cálculos de ANOVA-incertidumbre de análisis-suma de cuadrados de las diferencias, dentro de los grupos (SSE-análisis) para *Oocystis lacustris*

$SS_{E-análisis}$	Grados de libertad ( $df_{análisis}$ )	Varianza, $V_{análisis}$ (cel/mL)	Desviación estandar, $S_{análisis}$ (cel/mL)	Desviación estandar relativa $RSD_{análisis}$ (%)
2825921,60	8,00	353240,20	594,34	38,45

Tabla 40. Resultados de los cálculos de ANOVA-incertidumbre de muestreo-suma de cuadrados de las diferencias, dentro de los grupos (SSmuestreo) para *Oocystis lacustris*

$SS_{muestreo}$	Grados de libertad ( $df_{muestreo}$ )	Varianza, $V_{muestreo}$ (cel/mL)	Desviación estandar, $S_{muestreo}$ (cel/mL)	Desviación estandar relativa $RSD_{muestreo}$ (%)
388286,84	6,00	0,00	0,00	0,00

El cálculo de la incertidumbre expandida del análisis es 76.89 %, la incertidumbre expandida del muestreo fue de 0 % y la incertidumbre expandida de la medición fue de 76.89 % para *Oocystis lacustris*. (Tabla 41).

Tabla 41. Incertidumbre de la medición, muestreo y análisis para *Oocystis lacustris*

	Muestreo	Análisis	Medición
Desviación estandar	0,00	594,34	594,34
Incertidumbre $u$ (%)	0,00	38,45	38,45
Incertidumbre expandida $U$ (%) $=2*u$ con una factor de cobertura de 2 (por ejemplo 95% de confianza)	0	76,89	76,89

### 3.1.4. Estimación de la incertidumbre de muestreo para *Nitzschia* sp en muestra proveniente de campo (*in situ*)

Los resultados del recuento para dos niveles de concentración P-1 y P-2 se presentan en la tabla 42.

Tabla 42. Datos de concentración celular para *Nitzschia* sp en dos puntos de muestreo: P-1 y P-2, (M-1, M-2, M-3, M-4 son las muestras primarias de cada punto objetivo de muestreo, D1 y D2 son los análisis de duplicado de las muestras primarias.

Organismo evaluado: <i>Nitzschia</i> sp.			Puntos de muestreo	
			P1(Cel/mL)	P2(Cel/mL)
Análisis	M1	D1	0,00	0,00
		D2	0,00	0,00
	M2	D1	0,00	0,00
		D2	0,00	0,00
	M3	D1	0,00	0,35
		D2	0,00	0,00
	M4	D1	0,00	0,19
		D2	0,22	0,00
Desviación estandar			0,076746956	0,132786224
Promedio			0,03	0,07
RSD			282,8427125	195,3381142

Los datos no presentaron normalidad (Anexo 25) por lo que no se realizó el cálculo correspondiente para *Nitschia* sp.

### 3.2. ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DEL ANALISIS

#### 3.2.1 Estimación de la incertidumbre del análisis para *Oocystis lacustris*

- Cálculo de la Incertidumbre del recuento de *Oocystis lacustris* para la mínima concentración. El valor de la incertidumbre  $W_z^2$  es 0.07850 (Tabla 43).

Tabla 43. Cálculo de la Incertidumbre de la dispersión de microorganismos según la distribución de Poisson ( $W_z^2$ ) para *Oocystis lacustris* para la mínima concentración (CI-1), donde M es la muestra y D es el duplicado.

Organismo evaluado: <i>Oocystis lacustris</i>			CI-1 (Conteo de células)	Total	$W_z^2$
Análisis	M1	D1	10,00	10,00	0,1000
		D2	0,00		
	M2	D1	10,00	28,00	0,0357
		D2	18,00		
	M3	D1	8,00	8,00	0,1250
		D2	0,00		
	M4	D1	4,00	12,00	0,0833
		D2	8,00		
	M5	D1	12,00	13,00	0,0769
		D2	1,00		
	M6	D1	8,00	20,00	0,0500
		D2	12,00		
			Suma	$W_z^2$	0,4710
			Incertidumbre	$W_z^2$	0,07850



- Cálculo de la Incertidumbre del recuento de *Oocystis lacustris* para la máxima concentración. El valor de la incertidumbre  $W_z^2$  es 0.00112 (Tabla 44).

Tabla 44. Cálculo de la incertidumbre de la dispersión de microorganismos según la distribución de Poisson ( $W_z^2$ ) de *Oocystis lacustris* para la máxima concentración CI-2, donde M es la muestra y D es el duplicado

Organismo evaluado: <i>Oocystis lacustris</i>			CI-2 (Conteo de células)	Total	$W_z^2$
Análisis	M1	D1	471,00	873,00	0,0011
		D2	402,00		
	M2	D1	528,00	1034,00	0,0010
		D2	506,00		
	M3	D1	402,00	860,00	0,0012
		D2	458,00		
	M4	D1	435,00	841,00	0,0012
		D2	406,00		
	M5	D1	471,00	918,00	0,0011
		D2	447,00		
	M6	D1	400,00	864,00	0,0012
		D2	464,00		
			Suma	$W_z^2$	0,0067
			Incertidumbre	$W_z^2$	0,00112

- Cálculo de la Incertidumbre de la lectura del conteo de *Oocystis lacustris*. El valor de la incertidumbre  $W_t^2$  es 0.02 (tabla 45).

Tabla 45. Cálculo de la incertidumbre de la lectura de conteo ( $W_t^2$ ) de *Oocystis lacustris*, cuyo valor es el promedio de RSD<sup>2</sup> el cual es 0.02, donde las letras A-P son las 16 láminas contadas una primera vez (lámina 1), al cambiar los rótulos se contaron por segunda vez (Lámina 2).

Organismo evaluado: <i>Oocystis lacustris</i>		Lámina 1	Lámina 2	Promedio	Desviación estandar	RSD	RSD <sup>2</sup>
Análisis	A	204,00	191,00	197,50	9,19	0,05	0,00
	B	238,00	193,00	215,50	31,82	0,15	0,02
	C	231,00	203,00	217,00	19,80	0,09	0,01
	D	121,00	199,00	160,00	55,15	0,34	0,12
	E	111,00	176,00	143,50	45,96	0,32	0,10
	F	287,00	206,00	246,50	57,28	0,23	0,05
	G	238,00	272,00	255,00	24,04	0,09	0,01
	H	204,00	262,00	233,00	41,01	0,18	0,03
	I	611,00	690,00	650,50	55,86	0,09	0,01
	J	404,00	313,00	358,50	64,35	0,18	0,03
	K	417,00	400,00	408,50	12,02	0,03	0,00
	L	485,00	440,00	462,50	31,82	0,07	0,00
	M	450,00	473,00	461,50	16,26	0,04	0,00
	N	397,00	403,00	400,00	4,24	0,01	0,00
	O	415,00	415,00	415,00	0,00	0,00	0,00
	P	448,00	445,00	446,50	2,12	0,00	0,00
Promedio						0,12	0,02

- Cálculo de la incertidumbre del volumen para los dos organismos (*Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp.) se realizó en base a la especificación de la micropipeta del fabricante (Tabla 46):

Tabla 46. Especificaciones técnicas de micropipeta de 5-50  $\mu$ L. Adaptado del folleto del fabricante Capp Denmark

Color	Tamaño	Volumen ( $\mu$ L)	Inexactitud		Imprecisión	
			Absoluto ( $\pm \mu$ L)	Relativo ( $\pm \%$ )	$\leq$ SD	$\leq \%$
					$\mu$ L	CV
Rojo	5 -10 $\mu$ L	5	0,1	2	0,06	1,2
		25	0,2	0,8	0,09	0,35
		50	0,5	1	0,15	0,3

Se usó un volumen de 15  $\mu\text{L}$  en este experimento, pero al no tener datos de imprecisión del fabricante para este volumen se tomó el valor cercano más alto (25  $\mu\text{L}$ ) y el RSD calculado fue 0.0036.

- Cálculo de la Incertidumbre de los duplicados de los análisis para *Oocystis lacustris*. El valor de la incertidumbre  $W_{dp}^2$  para la concentración máxima de *Oocystis lacustris* fue 0.02 (tabla 47).

Tabla 47. Cálculo de la incertidumbre de los duplicados de los análisis ( $W_{dp}^2$ ) para la concentración máxima de *Oocystis lacustris* (CI-2), D1 y D2 son los duplicados de los análisis

Lámina	D1	D2	D1-D2	(D1+D2)	$((D1-D2)/(D1+D2))^2$	$2*((D1-D2)/(D1+D2))^2$
CI-2-1	1783,43	1329,31	454,12	3112,74	0,02	0,04
CI-2-2	2253,54	2221,35	32,19	4474,89	0,00	0,00
CI-2-3	1314,82	1220,58	94,24	2535,40	0,00	0,00
CI-2-4	1440,61	1373,55	67,06	2814,16	0,00	0,00
CI-2-5	2257,72	1757,22	500,5	4014,94	0,02	0,03
CI-2-6	1067,77	1497,15	-429,38	2564,92	0,03	0,06
Suma						0,13
Incertidumbre						0,02

El valor de la incertidumbre  $W_{dp}^2$  para la concentración mínima de *Oocystis lacustris* fue 0.98 (Tabla 48).

Tabla 48. Cálculo de la incertidumbre de los duplicados de los análisis ( $W_{dp}^2$ ) para la concentración mínima de *Oocystis lacustris* (CI-1), D1 y D2 son los duplicados de los análisis.

Lámina	D1	D2	D1-D2	(D1+D2)	$((D1-D2)/(D1+D2))^2$	$2*((D1-D2)/(D1+D2))^2$
CI-1-1	2,09	0	2,09	2,09	1,00	2,00
CI-1-2	1,87	3,36	-1,49	5,23	0,08	0,16
CI-1-3	1,68	0	1,68	1,68	1,00	2,00
CI-1-4	0,82	1,63	-0,81	2,45	0,11	0,22
CI-1-5	2,26	0,19	2,07	2,45	0,71	1,43
CI-1-6	1,59	2,39	-0,8	3,98	0,04	0,08
Suma						5,89
Incertidumbre						0,98

- Cálculo de la Incertidumbre de la distribución del campo de conteo para *Oocystis lacustris*. Los datos no son normales (ver Anexo 28 y 29). El valor de la incertidumbre  $W_c^2$  para la máxima concentración es 2.01 y para la mínima concentración es 10.23 (Ver Anexo 30 y 31).

### 3.2.2. Estimación de la incertidumbre del análisis para *Nitzschia* sp.

Cálculo de la Incertidumbre del recuento de *Nitzschia* sp. para la mínima concentración, el valor de la incertidumbre  $W_z^2$  es 0.24352 (Tabla 49).

Tabla 49. Cálculo de la Incertidumbre de la dispersión de microorganismos según la distribución de Poisson ( $W_z^2$ ) de *Nitzschia* sp. para la mínima concentración CI-1, donde M es la muestra y D es el duplicado.

Organismo evaluado: <i>Nitzschia</i> sp.			CI-1 (Conteo de células)	Total	$W_z^2$
Análisis	M1	D1	5,00	9,00	0,1111
		D2	4,00		
	M2	D1	4,00	6,00	0,1667
		D2	2,00		
	M3	D1	2,00	3,00	0,3333
		D2	1,00		
	M4	D1	0,00	2,00	0,5000
		D2	2,00		
	M5	D1	6,00	10,00	0,1000
		D2	4,00		
	M6	D1	4,00	4,00	0,2500
		D2	0,00		
			Suma	$W_z^2$	1,4611
			Incertidumbre	$W_z^2$	0,24352

- Cálculo de la Incertidumbre del recuento de *Nitzschia* sp. para la máxima concentración, el valor de la incertidumbre  $W_z^2$  es 0.10725 (Tabla 50).

Tabla 50. Cálculo de la Incertidumbre de la dispersión de microorganismos según la distribución de Poisson ( $W_z^2$ ) de *Nitzschia* sp. para la máxima concentración CI-2, donde M es la muestra y D es el duplicado

Organismo evaluado: <i>Nitzschia</i> sp.			CI-2 (Conteo de células)	Total	$W_z^2$
Análisis	M1	D1	4,00	9,00	0,1111
		D2	5,00		
	M2	D1	6,00	16,00	0,0625
		D2	10,00		
	M3	D1	2,00	7,00	0,1429
		D2	5,00		
	M4	D1	6,00	9,00	0,1111
		D2	3,00		
	M5	D1	5,00	8,00	0,1250
		D2	3,00		
	M6	D1	8,00	11,00	0,0909
		D2	3,00		
			Suma	$W_z^2$	0,6435
			Incertidumbre	$W_z^2$	0,10725

- Cálculo de la Incertidumbre de la lectura del conteo de *Nitzschia* sp. El valor de la incertidumbre  $W_t^2$  es 0.70 (Tabla 51).

Tabla 51. Cálculo de la incertidumbre de la lectura de conteo ( $W_t^2$ ) de *Nitzschia* sp. el valor de la incertidumbre es el promedio de  $RSD^2$  el cual es 0.70. donde las letras A-P son las 16 láminas contadas una primera vez (lámina 1), al cambiar los rótulos se contaron por segunda vez (Lámina 2).

Organismo evaluado <i>Nitzschia</i> sp.		Lámina 1	Lámina 2	Promedio	Desviación estandar	RSD	RSD <sup>2</sup>
Análisis	A	3,00	0,00	1,50	2,12	1,41	2,00
	B	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	C	0,00	1,00	0,50	0,71	1,41	2,00
	D	1,00	0,00	0,50	0,71	1,41	2,00
	E	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	F	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	G	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	H	1,00	0,00	0,50	0,71	1,41	2,00
	I	11,00	2,00	6,50	6,36	0,98	0,96
	J	11,00	6,00	8,50	3,54	0,42	0,17
	K	7,00	6,00	6,50	0,71	0,11	0,01
	L	3,00	5,00	4,00	1,41	0,35	0,13
	M	2,00	5,00	3,50	2,12	0,61	0,37
	N	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00	0,00
	O	5,00	1,00	3,00	2,83	0,94	0,89
	P	7,00	2,00	4,50	3,54	0,79	0,62
						Promedio	0,70

- Cálculo de la Incertidumbre de los duplicados de los análisis para *Nitzschia* sp. El valor de la incertidumbre  $W_{dp}^2$  para la concentración máxima de *Nitzschia* sp. fue 0.1834 (tabla 52).

Tabla 52. Cálculo de la incertidumbre de los duplicados de los análisis ( $W_{dp}^2$ ) para la concentración máxima de *Nitzschia* sp. (CI-2), D1 y D2 son los duplicados de los análisis.

Lámina	D1	D2	D1-D2	(D1+D2)	$((D1-D2)/(D1+D2))^2$	$2*((D1-D2)/(D1+D2))^2$
CI-2-1	15,15	16,53	-1,38	31,68	0,00	0,00
CI-2-2	25,61	43,9	-18,29	69,51	0,07	0,14
CI-2-3	6,54	13,33	-6,79	19,87	0,12	0,23
CI-2-4	19,87	10,15	9,72	30,02	0,10	0,21
CI-2-5	23,97	11,79	12,18	35,76	0,12	0,23
CI-2-6	21,36	9,68	11,68	31,04	0,14	0,28
Suma						1,10
Incertidumbre						0,18

El valor de la incertidumbre  $W_{dp}^2$  para la concentración mínima de *Nitzschia* sp. fue 0.7595 (Tabla 53).

Tabla 53. Cálculo de la incertidumbre de los duplicados de los análisis ( $W_{dp}^2$ ) para la concentración mínima de *Nitzschia* sp. (CI-2), D1 y D2 son los duplicados de los análisis.

Lámina	D1	D2	D1-D2	(D1+D2)	$((D1-D2)/(D1+D2))^2$	$2*((D1-D2)/(D1+D2))^2$
CI-1-1	1,04	0,84	0,2	1,88	0,01	0,02
CI-1-2	0,75	0,37	0,38	1,12	0,12	0,23
CI-1-3	0,42	0,21	0,21	0,63	0,11	0,22
CI-1-4	0	0,41	-0,41	0,41	1,00	2,00
CI-1-5	1,13	0,75	0,38	1,88	0,04	0,08
CI-1-6	0,8	0	0,8	0,8	1,00	2,00
					Suma	4,56
					Incertidumbre	0,76

- Cálculo de la Incertidumbre de la distribución del campo de conteo para *Nitzschia* sp. Los datos no son normales (ver Anexo 26 y 27). El valor de la incertidumbre  $W_c^2$  para la máxima concentración es 48.11 y para la mínima concentración es 8.72 (Ver Anexo 32 y 33).

#### Incertidumbre combinada relativa

Los resultados de la incertidumbre combinada relativa son para los 4 casos: Baja concentración de *Oocystis lacustris*, Alta concentración de *Oocystis lacustris*, Baja concentración de *Nitzschia* sp y Alta concentración de *Nitzschia* sp.

- Cálculo de la incertidumbre estándar combinada considerando 5 fuentes de incertidumbre  $W_z^2$ ,  $W_f^2$ ,  $W_t^2$ ,  $W_{dp}^2$  y  $W_c^2$ . El modelo de distribución es Binomial negativa para los cuatro casos porque  $w_A > 1/2 w_z$ . EL  $w_y$  para *Oocystis lacustris* (Mínima concentración) es de 3.3631, para *Oocystis lacustris* (Máxima concentración) es de 1.4334, para *Nitzschia* sp (Mínima concentración) es 3.2272 y para *Nitzschia* sp. (Máxima concentración) es de 7.0068 (Tabla 54).

Tabla 54. Cálculo de la incertidumbre combinada relativa con 5 fuentes de incertidumbre ( $W_z^2$ ,  $W_f^2$ ,  $W_t^2$ ,  $W_{dp}^2$  y  $W_c^2$ ) y sus límites de confianza al 95%.

	<i>Oocystis lacustris</i>		<i>Nitzschia sp.</i>	
	Baja concentración	Alta concentración	Baja concentración	Alta concentración
$w_z^2$	0,07850	0,00112	0,24352	0,10725
$w_f^2$	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
$w_t^2$	0,0246	0,0246	0,6964	0,6964
$w_{dp}^2$	0,9816	0,0223	0,7595	0,1834
$w_c^2$	10,2259	2,0067	8,7153	48,1076
$w_A$	3,3514	1,4330	3,1892	6,9991
Tipo de distribución	Binomial negativa	Binomial negativa	Binomial negativa	Binomial negativa
$w_y$	3,3631	1,4334	3,2272	7,0068

Límites de confianza al 95% (*)				
Nivel superior	7,7262	3,8669	7,4544	15,0135
Nivel inferior	-2,7984	-0,8041	-2,6601	-6,4735

(\*) El valor del nivel superior es el resultado de  $(1+2 W_Y)$ , el valor del nivel inferior es el resultado de  $(1-2W_Y^2/1+2 W_Y)$

- Cálculo de la incertidumbre estándar combinada considerando 4 fuentes de incertidumbre  $W_z^2$ ,  $W_f^2$ ,  $W_t^2$  y  $W_{dp}^2$ . El modelo de distribución es Binomial negativa para los cuatro casos porque  $w_A > \frac{1}{2} w_z$ . EL  $w_y$  para *Oocystis lacustris* (mínima concentración) es de 1.0415, para *Oocystis lacustris* (máxima concentración) es de 0.2192, para *Nitzschia sp* (Mínima concentración) es 1.3036 y para *Nitzschia sp*. (Máxima concentración) es de 0.9935 (Tabla 55).



Tabla 55. Cálculo de la incertidumbre combinada relativa con 4 ( $W_z^2$ ,  $W_f^2$ ,  $W_t^2$  y  $W_{dp}^2$ ) fuentes de incertidumbre y sus límites de confianza al 95%.

	<i>Oocystis lacustris</i>		<i>Nitzschia</i>	
	Baja concentración	Alta concentración	Baja concentración	Alta concentración
$w_z^2$	0,07850	0,00112	0,24352	0,10725
$w_f^2$	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
$w_t^2$	0,0246	0,0246	0,6964	0,6964
$w_{dp}^2$	0,9816	0,0223	0,7595	0,1834
$w_A$	1,0031	0,2166	1,2066	0,9380
Tipo de distribución	Binomial negativa	Binomial negativa	Binomial negativa	Binomial negativa
$w_y$	1,0415	0,2192	1,3036	0,9935

Límites de confianza al 95% (*)				
Nivel superior	3,08299	1,43840	3,60720	2,98704
Nivel inferior	-0,37932	0,62841	-0,66499	-0,32613

(\*) El valor del nivel superior es el resultado de  $(1+2 W_Y)$ , el valor del nivel inferior es el resultado de  $(1-2W_Y^2/1+2 W_Y)$

- Cálculo de la incertidumbre estándar combinada considerando 3 fuentes de incertidumbre  $W_z^2$ ,  $W_f^2$  y  $W_{dp}^2$ . El modelo de distribución es Binomial negativa para los cuatro casos porque  $w_A > \frac{1}{2} w_z$ . EL  $w_y$  para *Oocystis lacustris* (Mínima concentración) es de 1.0296, para *Oocystis lacustris* (Máxima concentración) es de 0.1530, para *Nitzschia* sp (Mínima concentración) es 1.0015 y para *Nitzschia* sp. (Máxima concentración) es de 0.5392 (Tabla 56).

Tabla 56. Cálculo de la incertidumbre combinada relativa con 3 ( $W_z^2$ ,  $W_f^2$  y  $W_{dp}^2$ ) fuentes de incertidumbre y sus límites de confianza al 95%.

	<i>Oocystis lacustris</i>		<i>Nitzschia</i>	
	Baja concentración	Alta concentración	Baja concentración	Alta concentración
$w_z^2$	0,07850	0,00112	0,24352	0,10725
$w_f^2$	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
$w_{dp}^2$	0,9816	0,0223	0,7595	0,1834
$w_A$	0,9908	0,1493	0,8715	0,4283
Tipo de distribución	Binomial negativa	Binomial negativa	Binomial negativa	Binomial negativa
$w_y$	1,0296	0,1530	1,0015	0,5392

Límites de confianza al 95% (*)				
Nivel superior	3,0592	1,3060	3,0030	2,0784
Nivel inferior	-0,3662	0,7298	-0,3350	0,2014

(\*) El valor del nivel superior es el resultado de  $(1+2 W_Y)$ , el valor del nivel inferior es el resultado de  $(1-2W_Y^2/1+2 W_Y)$

#### 4. Estimación de la incertidumbre asociada al recuento del fitoplancton obtenido de la laguna La Viuda.

- **Concentración de *Oocystis lacustris* (cel/mL) para abril, julio y noviembre del 2017.**

Se presentan los resultados de la concentración de *Oocystis lacustris* (cel/mL) al aplicar la fórmula de Lackey, sin incertidumbre alguna (Tabla 57).

Tabla 57. Resultados de la concentración de *Oocystis lacustris* (cel/mL) sin incertidumbre para abril, julio y noviembre 2017 de la laguna La Viuda.

MES	ESTACIONES DE MUESTREO											
	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
<b>Abril 2017</b>	16,16	6,43	14,24	0,00	6,85	7,44	17,28	16,49	5,39	0,00	10,03	4,13
<b>Julio 2017</b>	212,94	139,32	95,71	50,85	101,36	15,52	42,50	55,30	117,11	70,07	55,76	100,44
<b>Noviembre 2017</b>	1954,51	1252,06	1772,45	1408,79	2062,43	1056,96	1584,15	2616,13	1696,60	1641,53	1113,95	1101,43

Al introducir la incertidumbre del recuento obtenemos un intervalo de confianza al 95 % que tiene un nivel inferior (LI) y un nivel superior (LS) en el cual puede estar el valor verdadero (Tabla 58, 59 y 60).

Tabla 58. Resultados de la concentración de *Oocystis lacustris* (cel/mL) con 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre de la laguna La Viuda para abril 2017 en las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).

Mes	Incertidumbre	S-01			S-04			S-03			S-05		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
Abril 2017	5 fuentes	-15,08	5,39	41,63	0,00	0,00	0,00	-28,08	10,03	77,53	-11,56	4,13	31,90
Abril 2017	4 fuentes	-2,04	5,39	16,61	0,00	0,00	0,00	-3,81	10,03	30,94	-1,57	4,13	12,73
Abril 2017	3 fuentes	-1,97	5,39	16,48	0,00	0,00	0,00	-3,67	10,03	30,70	-1,51	4,13	12,63
Mes	Incertidumbre	M-03			M-04			M-05			M-02		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
Abril 2017	5 fuentes	-45,23	16,16	124,89	-18,01	6,43	49,72	-39,85	14,24	110,02	0,00	0,00	0,00
Abril 2017	4 fuentes	-6,13	16,16	49,83	-2,44	6,43	19,84	-5,40	14,24	43,90	0,00	0,00	0,00
Abril 2017	3 fuentes	-5,92	16,16	16,16	-2,36	6,43	19,69	-5,21	14,24	43,56	0,00	0,00	0,00
Mes	Incertidumbre	I-02			I-05			I-03			I-06		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
Abril 2017	5 fuentes	-19,16	6,85	52,89	-20,83	7,44	57,52	-48,36	17,28	133,52	-46,15	16,49	127,41
Abril 2017	4 fuentes	-2,60	6,85	21,11	-2,82	7,44	22,95	-48,36	17,28	53,28	-6,26	16,49	50,84
Abril 2017	3 fuentes	-2,51	6,85	20,94	-2,73	7,44	22,78	-6,33	17,28	52,87	-6,04	16,49	50,45

Tabla 59. Resultados de la concentración de *Oocystis lacustris* (cel/mL) con 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre de la laguna La Viuda para julio 2017 en las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).

Mes	Incertidumbre	S-01			S-04			S-03			S-05		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
Julio 2017	5 fuentes	-327,71	117,11	904,79	-196,08	70,07	541,37	-156,05	55,76	430,84	-281,07	100,44	776,03
Julio 2017	4 fuentes	-44,42	117,11	361,04	-26,58	70,07	216,02	-21,15	55,76	171,92	-38,10	100,44	309,66
Julio 2017	3 fuentes	-42,88	117,11	358,25	-25,66	70,07	214,36	-20,42	55,76	170,59	-36,78	100,44	307,27
Mes	Incertidumbre	M-03			M-04			M-05			M-02		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
Julio 2017	5 fuentes	-595,89	212,94	1645,21	-389,89	139,32	1076,45	-267,83	95,71	739,45	-142,30	50,85	392,88
Julio 2017	4 fuentes	-80,77	212,94	656,49	-52,85	139,32	429,54	-36,30	95,71	295,06	-19,29	50,85	156,77
Julio 2017	3 fuentes	-77,97	212,94	651,42	-51,02	139,32	426,22	-35,04	95,71	292,79	-18,62	50,85	155,56
Mes	Incertidumbre	I-02			I-05			I-03			I-06		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
Julio 2017	5 fuentes	-283,65	101,36	783,14	-43,44	15,52	119,92	-118,94	42,50	328,38	-154,76	55,30	427,30
Julio 2017	4 fuentes	-38,45	101,36	312,49	-5,89	15,52	47,85	-16,12	42,50	131,03	-20,98	55,30	170,50
Julio 2017	3 fuentes	-37,11	101,36	310,08	-5,68	15,52	47,48	-15,56	42,50	130,02	-20,25	55,30	169,19

Tabla 60. Resultados de la concentración de *Oocystis lacustris* (cel/mL) con 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre de la laguna La Viuda para noviembre 2017 en las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).

Mes	Incertidumbre	S-01			S-04			S-03			S-05		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
Noviembre 2017	5 fuentes	-1364,28	1696,60	6560,51	-1319,99	1641,53	6347,55	-895,75	1113,95	4307,49	-885,69	1101,43	4259,08
Noviembre 2017	4 fuentes	1066,162	1696,60	2440,39	1031,55	1641,53	2361,172	700,01783	1113,95	1602,306	692,152	1101,43	1584,3
Noviembre 2017	3 fuentes	1238,212	1696,60	2215,83	1198,02	1641,53	2143,899	812,98211	1113,95	1454,863	803,847	1101,43	1438,52
Mes	Incertidumbre	M-03			M-04			M-05			M-02		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
Noviembre 2017	5 fuentes	-1571,67	1954,51	7557,81	-1006,81	1252,06	4841,52	-1425,27	1772,45	6853,80	-1132,84	1408,79	5447,58
Noviembre 2017	4 fuentes	1228,235	1954,51	2811,37	786,805	1252,06	1800,957	1113,825	1772,45	2549,491	885,297	1408,79	2026,4
Noviembre 2017	3 fuentes	1426,439	1954,51	2552,67	913,774	1252,06	1635,234	1293,5668	1772,45	2314,888	1028,16	1408,79	1839,93
Mes	Incertidumbre	I-02			I-05			I-03			I-06		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
Noviembre 2017	5 fuentes	-1658,44	2062,43	7975,09	-849,92	1056,96	4087,10	-1273,85	1584,15	6125,68	-2103,69	2616,13	10116,19
Noviembre 2017	4 fuentes	1296,05	2062,43	2966,59	664,20	1056,96	1520,33	995,50	1584,15	2278,64	1644,00	2616,13	3763,04
Noviembre 2017	3 fuentes	1505,20	2062,43	2693,61	771,39	1056,96	1380,43	1156,14	1584,15	2068,96	1909,30	2616,13	3416,77

- **Concentración *Nitzschia* sp. (cel/mL) para abril, julio y noviembre del 2017.**

Se presentan los resultados de la concentración de *Nitzschia* sp. (cel/mL) (Tabla 59) al aplicar la fórmula de Lackey, sin incertidumbre alguna (Tabla 61).

Tabla 61. Resultados de la concentración de *Nitzschia* sp. (cel/mL) sin sus respectivas incertidumbres para abril 2017 de la laguna La Viuda.

MES	ESTACIONES DE MUESTREO											
	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
<b>Abril 2017</b>	2,85	7,72	1,78	8,32	1,96	3,72	3,46	38,47	1,35	0,00	2,01	4,12
<b>Julio 2017</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	1,95	31,04	25,00	0,00	0,00	5,39	0,00	0,00
<b>Noviembre 2017</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,46	0,00	7,01	0,00	0,00	0,00	0,00

Al introducir la incertidumbre del recuento obtenemos un intervalo de confianza al 95 % que tiene un nivel inferior (LI) y un nivel superior (LS) en el cual puede estar el valor verdadero (Tabla 62, 63 y 64).

Tabla 62. Resultados de la concentración de *Nitzschia* sp. (cel/mL) con 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre de la laguna La Viuda para abril 2017 en las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).

Mes	Incertidumbre	S-01			S-04			S-03			S-05		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
<b>Abril 2017</b>	<b>5 fuentes</b>	-3,58	1,35	10,04	0,00	0,00	0,00	-5,34	2,01	14,96	-10,96	4,12	30,71
<b>Abril 2017</b>	<b>4 fuentes</b>	-0,90	1,35	4,86	0,00	0,00	0,00	-1,33	2,01	7,24	-2,74	4,12	14,86
<b>Abril 2017</b>	<b>3 fuentes</b>	-0,45	1,35	2,80	0,00	0,00	0,00	-0,67	2,01	4,17	-1,38	4,12	8,56
Mes	Incertidumbre	M-03			M-04			M-05			M-02		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
<b>Abril 2017</b>	<b>5 fuentes</b>	-7,59	2,85	21,26	-49,99	7,72	115,93	-4,74	1,78	13,27	-53,86	8,32	124,91
<b>Abril 2017</b>	<b>4 fuentes</b>	-1,90	2,85	10,29	-2,52	7,72	23,07	-1,18	1,78	6,42	-2,71	8,32	24,85
<b>Abril 2017</b>	<b>3 fuentes</b>	-0,96	2,85	5,93	-2,59	7,72	16,05	-0,60	1,78	3,70	-2,79	8,32	17,29
Mes	Incertidumbre	I-02			I-05			I-03			I-06		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
<b>Abril 2017</b>	<b>5 fuentes</b>	-5,20	1,96	14,58	-9,90	3,72	27,75	-9,19	3,46	25,76	-249,03	38,47	577,57
<b>Abril 2017</b>	<b>4 fuentes</b>	-1,30	1,96	7,06	-2,48	3,72	13,43	-2,30	3,46	12,47	-12,55	38,47	114,91
<b>Abril 2017</b>	<b>3 fuentes</b>	-0,66	1,96	4,07	-1,25	3,72	7,74	-1,16	3,46	7,18	-12,89	38,47	79,95

Tabla 63. Resultados de la concentración de *Nitzschia* sp. (cel/mL) con 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre de la laguna La Viuda para julio 2017 en las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).

Mes	Incertidumbre	S-01			S-04			S-03			S-05		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
<b>Julio 2017</b>	<b>5 fuentes</b>	0,00	0,00	0,00	-14,34	5,39	40,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Julio 2017</b>	<b>4 fuentes</b>	0,00	0,00	0,00	-3,58	5,39	19,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Julio 2017</b>	<b>3 fuentes</b>	0,00	0,00	0,00	-1,81	5,39	11,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mes	Incertidumbre	M-03			M-04			M-05			M-02		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
<b>Julio 2017</b>	<b>5 fuentes</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Julio 2017</b>	<b>4 fuentes</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Julio 2017</b>	<b>3 fuentes</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mes	Incertidumbre	I-02			I-05			I-03			I-06		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
<b>Julio 2017</b>	<b>5 fuentes</b>	-5,19	1,95	14,53	-200,94	31,04	466,02	-161,84	25,00	375,36	0,00	0,00	0,00
<b>Julio 2017</b>	<b>4 fuentes</b>	-1,30	1,95	7,03	-10,12	31,04	92,72	-8,15	25,00	74,68	0,00	0,00	0,00
<b>Julio 2017</b>	<b>3 fuentes</b>	-0,65	1,95	4,05	-10,40	31,04	64,51	-8,38	25,00	51,96	0,00	0,00	0,00

Tabla 64. Resultados de la concentración de *Nitzschia* sp. (cel/mL) con 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre de la laguna La Viuda para noviembre 2017 en las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).

Mes	Incertidumbre	S-01			S-04			S-03			S-05		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
Noviembre 2017	5 fuentes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Noviembre 2017	4 fuentes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Noviembre 2017	3 fuentes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mes	Incertidumbre	M-03			M-04			M-05			M-02		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
Noviembre 2017	5 fuentes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Noviembre 2017	4 fuentes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Noviembre 2017	3 fuentes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mes	Incertidumbre	I-02			I-05			I-03			I-06		
		LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS	LI	Resultado	LS
Noviembre 2017	5 fuentes	0,00	0,00	0,00	-54,74	8,46	126,95	0,00	0,00	0,00	-45,40	7,01	105,30
Noviembre 2017	4 fuentes	0,00	0,00	0,00	-2,76	8,46	25,26	0,00	0,00	0,00	-2,29	7,01	20,95
Noviembre 2017	3 fuentes	0,00	0,00	0,00	-2,83	8,46	17,57	0,00	0,00	0,00	-2,35	7,01	14,58

Los valores del LI negativos de la incertidumbre de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. fueron omitidos según el procedimiento para calcular la incertidumbre de valores cercanos al límite de detección de la guía de la EURACHEM y se consideró en estos casos como valor del LI al cero. En las Figuras 35, 36 y 37 se observan los gráficos de la abundancia considerando las 3, 4 y 5 fuentes de incertidumbres para el límite inferior y límite superior del rango de incertidumbre (Ver también anexos 36, 37 y 38).

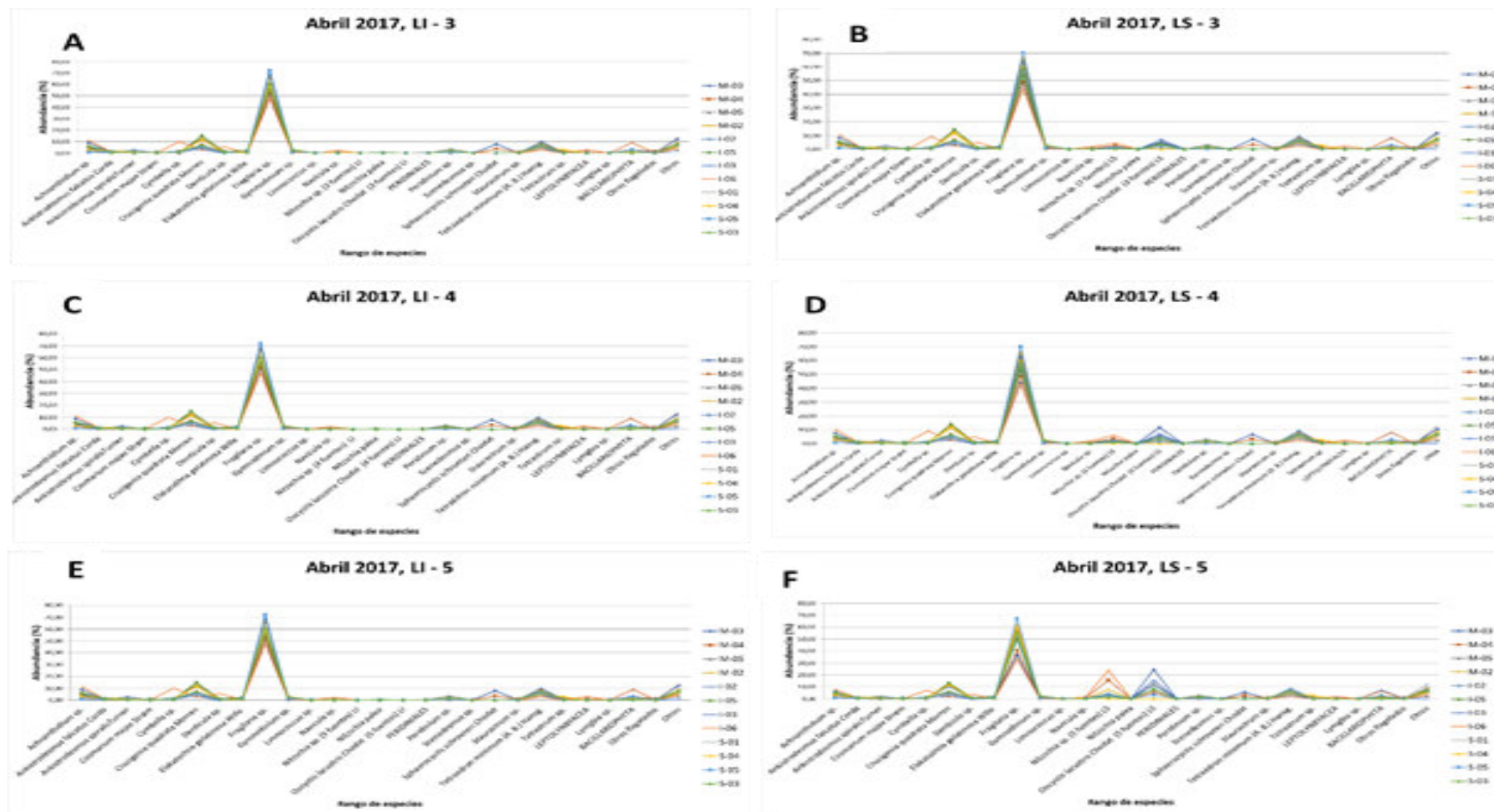


Figura 35. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo de la laguna La Viuda, abril – 2017; los gráficos incorporan los números correlativos que indican 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbres para *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. donde LI es el límite inferior y LS es el Límite superior. A) LI-3, B) LS-3, C) LI-4, D) LS-4, E) LI-5 y F) LS-5

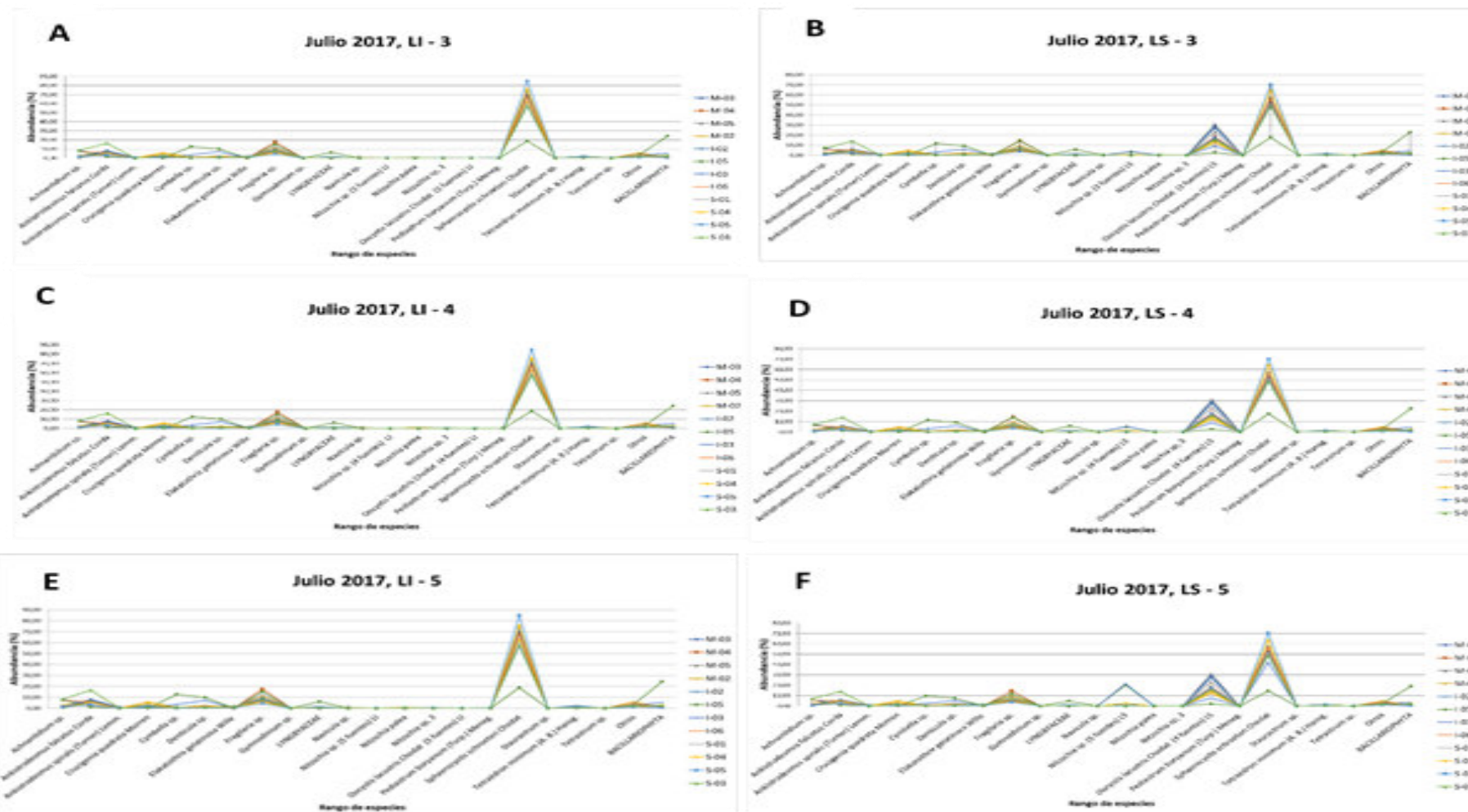


Figura 36. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo de la laguna La Viuda, julio – 2017; los gráficos incorporan los números correlativos que indican 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbres para *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. donde LI es el límite inferior y LS es el Límite superior. A) LI-3, B) LS-3, C) LI-4, D) LS-4, E) LI-5 y F) LS-5



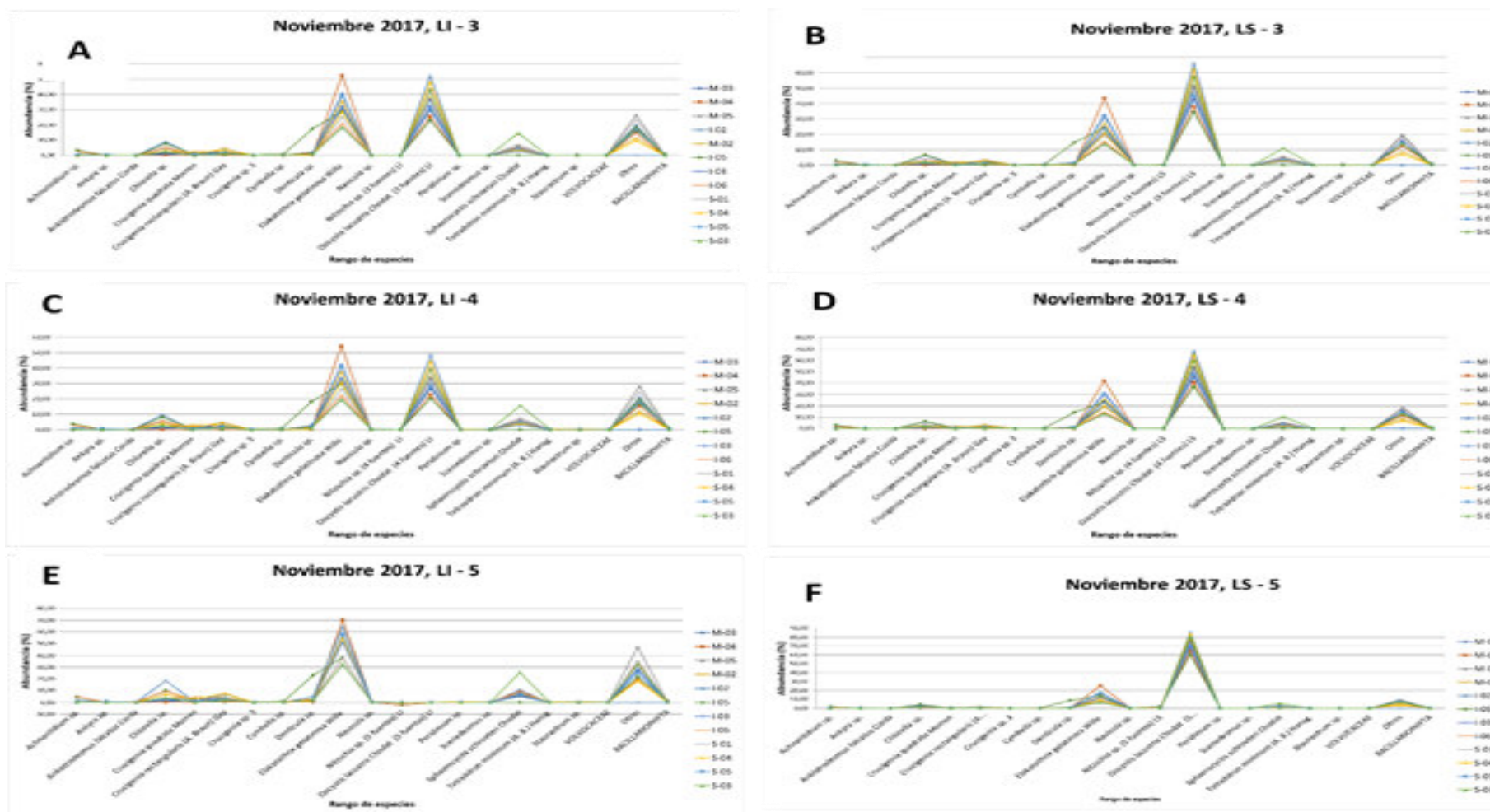


Figura 37. Abundancia (%) del fitoplancton en las doce estaciones de muestreo de la laguna La Viuda, noviembre – 2017; los gráficos incorporan los números correlativos que indican 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbres para *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. donde LI es el límite inferior y LS es el Límite superior. A) LI-3, B) LS-3, C) LI-4, D) LS-4, E) LI-5 y F) LS-5.



## DISCUSIÓN

### 1. Análisis de la calidad del agua

La calidad del agua involucra el nivel de concentración o el grado de elementos de los parámetros fisicoquímicos y biológicos presentes en el cuerpo del receptor que no representa un riesgo significativo para la salud de las personas ni del ambiente (DS 004-2017-MINAM). En una investigación de cuerpos de agua debería entonces tener en cuenta los estudios fisicoquímicos y tenerlos como antecedentes dada la importancia de la misma para investigaciones posteriores.

Para determinar si el nivel de concentración de estos parámetros inorgánicos presentes en el agua no representa riesgo para la salud de las personas o el ambiente, se debe considerar los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para el agua en nuestro país, pero es necesario asignar antes una categoría al cuerpo de agua en mención. Hay cuatro categorías: 1) Poblacional y recreacional; 2) Extracción, cultivo y otras actividades marino costeras y continentales; 3) Riego de vegetales y bebida de animales y 4) Conservación del ambiente acuático (DS 004-2017-MINAM). La Autoridad Nacional del Agua (ANA) es la encargada de asignar las categorías a los cuerpos de aguas naturales, y si hubiese dos o más posibles categorías se prioriza el uso poblacional; sin embargo, en la evaluación práctica de este estudio se evidenció que la laguna La Viuda, es de difícil acceso (se encuentra a 30 minutos aproximadamente de la Ciudad de Canta, solo es visitado por turistas, exponiéndose a la falta de cuidado de las autoridades, también se observó en dicha laguna la presencia de heces de animales (ganado) en la zona litoral (Este) debido a que estos animales van a beber del agua de la laguna; y en el mes de noviembre del 2017 se observó una piscigranja de truchas en la zona media cercano al estrato inferior, entonces resulta contradictorio asignarle una categoría de uso poblacional sin tomar en cuenta que este cuerpo de agua está siendo de alguna manera impactada por el descuido de las autoridades.

En febrero del 2018 se aprueba la clasificación de los cuerpos de agua continentales superficiales (RJ N° 056-2018-ANA) con la finalidad de contribuir en

la conservación y protección de la calidad de los cuerpos de agua superficiales y potenciales en concordancia con los ECAs, esta resolución adjunta un anexo donde están categorizados los cuerpos de agua loticos y lenticos a nivel nacional, pero la laguna La Viuda no está categorizada aun, por lo que este estudio contribuye como antecedente para una futura clasificación.

Al no conocer a que categoría pertenece, no podríamos aseverar cual es la calidad del agua de esta laguna; por lo que a futuro cuando se le asigne una categoría por la autoridad competente, debe considerarse finalmente las características naturales que, por las condiciones geológicas de los suelos o subsuelos o fenómenos extremos, etc. podrían influenciar y hacer que las concentraciones de estas características inorgánicas sean superiores a la categoría de los ECA (DS 004-2017-MINAM)

Por otro lado se observó que entre los metales más abundantes tenemos al Ca (22.78- 25.84 ppm) y al Mg (1.51-1.54 ppm) (Figura 15), al realizar el cálculo de la dureza (70.28 para la E-01, 70.79 para E-02 y 63.11 mg CaCO<sub>3</sub>/L para E-08) podemos afirmar que la laguna La Viuda tiene aguas moderadamente duras según la clasificación de dureza OMS (2011). Asimismo, estos resultados son coherentes con el hecho de que la unidad litoestratigráfica de la laguna La Viuda se encuentra sobre caliza micritica (INGEMMET 2017)

También se observó que tenemos metales más abundantes como el Si (1.14-1.21 ppm), K (0.35-0.38 ppm) y Na (0.24-0.26 ppm) (Figura 15), lo cual es interesante observar debido a que el silicio es importante y requerido solo por diatomeas, silicoflagelados y algunas Chrysophyta, los micronutrientes como potasio y el sodio y en general, los otros microelementos, son necesarios para el crecimiento del fitoplancton, por ejemplo algunos géneros como *Chrysochromulina* requieren selenio (Andersen 2005, Bellinger y Sigee 2010).

En caso de que esta laguna sea asignada a la categoría 4, se observa que se trataría de una laguna no impactada porque los valores de los parámetros inorgánicos están en niveles aceptables. En relación al nitrato, también cumple, pero para el caso del nitrógeno total no; asimismo el fosforo total varía en concentraciones, por ejemplo, para el mes de abril – 2017 cumple para las tres

estaciones de muestreo S-05, I-03 y M-05, mientras que para el mes de noviembre – 2017 la estación M-05 no cumpliría. Si tomamos la referencia de Wimalawansa y Wimalawansa (2015) para el fosfato también hay variabilidad entre qué nivel de aceptación se encuentra, mientras que en abril – 2017 están clasificados en nivel 1 (nivel no contaminado) en noviembre – 2017 están en un nivel 3 y 4 (más allá del nivel máximo aceptado), entonces esta variación podría ser propio de las características naturales que por sus condiciones geológicas de los suelos o subsuelos o fenómenos extremos, etc. podrían influenciar y hacer que las concentraciones de estas características inorgánicas sean superior a la categoría de los ECAs (DS 004-2017-MINAM), también esto puede coincidir con el hecho de que en el año 2017 ocurrió el fenómeno climático del Niño Costero trayendo consigo lluvias, erosión y remoción de las zonas ribereñas.

La evaluación de las características de la calidad el agua en este estudio tiene importancia para el objetivo principal de estudio porque pueden ser fuentes de incertidumbre para el muestreo y análisis; la selección del sitio de muestreo y la variación entre las muestras de diferentes sitios de muestreo es importante (Lototskaya *et al* 2006; Grøn *et al* 2007); un ambiente contaminado contribuye por lo tanto considerablemente a la incertidumbre de un determinado analito (un organismo fitoplanctónico).

Un ambiente contaminado (dependiendo del tipo de contaminación) puede causar, por ejemplo, formas teratológicas sobre las diatomeas, el estrés producido por factores químicos y físicos pueden afectar el proceso reproductivo, el contorno de las células de diatomea, los patrones de estriación pueden cambiar de diferentes maneras y de esta manera resulta difícil reconocer si una forma desconocida es teratológica o pertenece a una nueva especie (Falasco *et al*, 2009). Round *et al* (1990) menciona que cualquier oportunidad en la plasmólisis durante la formación de la valva de las diatomeas afectan los márgenes de las nuevas valvas y puede producir efectos no solo en la forma de estas valvas sino en la forma de todas las sucesivas generaciones pudiendo ocurrir una competencia entre células de un mismo genotipo, pero diferente fenotipo. De esta manera, la contaminación puede afectar de manera indirecta la identificación taxonómica de diatomeas en el laboratorio; por lo tanto, el estudio fisicoquímico es importante en esto, debido a

que las diatomeas responden a veces a los cambios en la salinidad y el silicato disponible cambiando el grado y los patrones de silificación en sus valvas. También puede darse el caso de que los organismos presenten plasticidad fenotípica, es decir producir diferentes fenotipos en respuesta a diferentes condiciones ambientales (Scheiner *et al* 1991) por lo que también esto influenciaría en la descripción taxonómica de un organismo fitoplanctónico en particular. Por ejemplo, en *Scenedesmus* cuando se ha expuesto a varias condiciones ambientales, como la disponibilidad de nutrientes, contaminantes derivados de aguas residuales, temperatura, salinidad, etc (Peña J. *et al* 2004). Entonces hay una influencia no solamente en la incertidumbre de la identificación sino en el recuento total de la población porque básicamente los taxónomos toman en cuenta la morfometría y la morfología.

## **2. Evaluación del fitoplancton de la laguna La Viuda.**

### **Evaluación preliminar del fitoplancton**

En el presente trabajo, se observó en la E-01 para el mes de agosto del 2016 una concentración mayor de diatomeas en comparación con la estación E-02 en la que predominó las clorofitas (zona pedregosa sin litoral), esto se explica porque el litoral de la E-01 estaba constituido por sedimento, la diatomea que más predominó fueron *Fragilaria* sp. y *Cymbella* sp. (Anexo 12); según Round *et al* (1990) muchas especies de *Fragilaria* sp. se encuentran en sedimentos de agua dulces y unos pocos en el plancton, por otro lado *Cymbella* sp. es un organismo bentónico, pese a que este trabajo tenía como objetivo recolectar organismos del nivel superficial (0-30cm) la presencia de estas diatomeas se explica porque hay una interacción constante entre la zona superficial y el bentos (sedimentos) como lo menciona Reynolds *et al* (1982) y Alvial *et al.* (2008) esto también es influenciado por el movimiento del oleaje (formación de abundante espuma) que se observó en la laguna La Viuda. La distinción entre diatomeas bentónicas y planctónicas no es absoluta porque algunos pueden pasar parte del año en las zonas profundas y otra crecer activamente en la columna de agua y suspendidas en al agua superficial, los disturbios del sedimento también modifican la comunidad bentónica (Round *et al* 1990).

Para el mes de noviembre, en las estaciones E-01 y E-02 predominaron las diatomeas, pero en E-02 no hay presencia de sedimento, esto se explica porque las aguas superficiales de la Laguna La Viuda tienen movimiento originado por la variación de la dirección del viento, autores como Margalef et al (1955) y Smith y Smith (2007) mencionan que los vientos intervienen en la mezcla del epilimnion de los sistemas lacustres, los vientos producen un movimiento de las aguas observadas.

En las estaciones E-02, E-03 del mes de agosto-2016 y en las estaciones E-04, E-05, E-06, E-07 y E-08 predominaron las clorofitas que es lo esperado a observar en aguas dulces, según Lee (2008) cerca del 90% de las algas en aguas dulces son clorofitas. En este estudio no hemos encontrando una cantidad considerable de cianofitas por no decir nulo, esto se explica por el pH ligeramente ácido ( $\text{pH}=6$ ), las cianofitas viven en un ambiente alcalino, generalmente no toleran aguas con pH por debajo de 5 y son pocos comunes entre pH de 5-6, por otro lado crecen a temperaturas mayores de 20 °C aunque pueden ser tolerantes (Lee, 2008; Giannuzi, 2009) en este estudio la temperatura osciló entre 13.3-17.5, las pocas cianofitas que se encontraron no entraron a conteo por carecer de contenido celular según la metodología de recuento del APHA(2012).

Esta laguna subyace sobre la Cordillera de La Viuda el cual está formada por caliza por lo que se esperaría un pH por encima de 7, sin embargo esto no fue así, otros autores al estudiar las características químicas de lagunas altoandinas reportan valores de pH muy variables, Baylón *et al* (2018) menciona valores pH de 2.4, 7.28, 2.49, 5.6, 6.4, 7.11 y 8.11, mientras que Moreno (1996) al estudiar nueve lagunas altoandinas encontró desde pH fuertemente alcalino ( $> 8.3$  y  $< 9.6$ ) posiblemente a la presencia de alcalino térreos y sedimentos, pH neutros 7.0 y 7.3, y una laguna con pH ácido de 3.4, él explicó esto debido a la presencia de sulfuro de hierro (pirita) e influencia de aguas volcánicas. En la Laguna La Viuda no se ha realizado un análisis de composición del sustrato de la cuenca porque lo que a futuro se recomendaría estudios geomorfológicos para explicar este fenómeno; sin embargo como se observa en los estudios de los autores antes mencionados las lagunas a pesar de ser aledañas tienen pH bastante variable, Moreno (1996) menciona que las lagunas a pesar de estar sobre una misma área geológica y bajo las mismas

condiciones climáticas, el agua no siempre tiene la misma composición iónica, teniendo respuestas diversas a los cambios de clima (constitución de la cuenca, evaporación y la precipitación de sales en la misma cubeta).

### **Evaluación estacional del fitoplancton**

En la evaluación estacional del fitoplancton en abril del 2017 todas las estaciones exceptuando I-05 e I-03 tuvieron predominancia de diatomeas, en estas dos estaciones fueron más abundante las clorofitas; en julio del 2017 la División con mayor abundancia fue Chlorophyta excepto en I-05 donde abundó las diatomeas, en el mes de noviembre en todas las estaciones de muestreo predominaron las clorofitas, en los meses evaluados se observó que la alternancia de sucesiones ocurre entre los grupos de diatomeas y clorofitas esto se explica por la alternancia de las divisiones fitoplanctónicas.

Con respecto a los índices de diversidad alfa, para el mes de abril (otoño) del 2017, los valores más altos para la riqueza específica (S) se presentaron en las estaciones M-04 (19) e I-05 (19), en el resto de las estaciones los valores oscilaron entre 13 y 15; los valores del índice de Riqueza Margalef (1958) se encontraron entre 2 y 5 por lo que todas las estaciones presentaron diversidad media, excepto M-02 (1.64), I-02 (1.99), I-03 (1.98), I-06 (1.87) y S-04 (1.70) los cuales presentaron una diversidad baja. Los valores del índice de Shannon y Wiener, (Magurran, 2004) se encontraron entre 1.5 y 3.5, siendo el valor más alto para la estación M-04 (2.87) y el más bajo para la estación S-05 (1.75). Finalmente, al realizar los índices de Simpson (Magurran 2004, Peet 1974, Lande, 1996) se observó que el índice de diversidad de Simpson (1-D) denostró que las estaciones M-03 (0.73), M-04 (0.72), I-06 (0.75) e I-05 (0.66) son las que presentaron mayor diversidad (cercano a 1), el índice reciproco de Simpsom también confirmaron estos valores en estas cuatro estaciones. Para el mes de abril-2017, este trabajo concluye que hay especies dominantes en la estación M-02 y S-05, pues los valores más altos del índice de Dominancia Simpson fueron 0.48 y 0.52, el índice de Pielou presentó asimismo valores más bajos en estas dos estaciones (0.49-0.45) habiendo una tendencia a alejarse de la equitatividad (Magurran, 1989). La especie más abundante fue *Fragilaria* sp. y fue dominante para las estaciones M-02 y S-05. La estación con mayor equitatividad fue la I-06 (0.72)

Con respecto al muestreo de julio (invierno), la riqueza específica (S) fue mayor en la estación S-04 (14) las demás estaciones oscilaron entre 11 y 13, el índice de Margalef (Margalef 1958) consideró a todas las estaciones como zonas de baja diversidad por tener valores por debajo de 2. El índice de Shannon y Wiener para todas las estaciones oscilaron entre este rango, el valor más alto fue para I-05 (3.04) y los valores más bajos para S-05 (1.36) e I-05 (1.33); el índice de diversidad según Simpson confirmó que la I-05 (0.85) presentó mayor diversidad de especies y que la S-05 (0.36) presentó la menor diversidad, esto estaría confirmándose por el índice recíproco Simpson que tuvo el valor más alto en I-05 (6.85) y el valor más bajo en S-05 (1.56); asimismo si hubo presencia de especies dominantes en la estación S-05 (0.64), el índice de Pielou para S-05 con un valor de 0.38 indicó que las especies se alejan de la equitatividad con respecto a las otras estaciones predominando *Sphaerocystis schroeteri*; la estación con mayor equitatividad fue la I-05 (0.88)

Con respecto al muestreo de noviembre (primavera), la riqueza específica (S) fue mayor en la estación I-06 (12), las demás estaciones oscilaron entre 8-10, el índice de Margalef (Margalef 1958) consideró a todas las estaciones como zonas de baja diversidad (valores por debajo de 2). El índice de Shannon y Wiener osciló entre el rango de 1.5 y 3.5 según Magurran (2004) y el valor más alto fue para la estación I-05 (2.52) y el valor más bajo para la I-02 (1.62), el índice de diversidad según Simpson confirmó que la I-05 presentó mayor diversidad de especies (0.79) y que la I-02 tuvo la menor diversidad (0.57); el índice recíproco de Simpson también confirmó estos valores: I-05 (4.79) e I-02 (2.30); asimismo no hubo presencia de especies dominantes en ninguna de las estaciones porque los valores fueron cercanos a 0, el máximo valor lo presentó I-02 (0.43), el índice de Pielou indicó que todas las estaciones tendieron a la equitatividad. La especie más abundante para todas las estaciones fue *Oocystis lacustris* seguida de *Elakatothrix gelatinosa*, la competencia entre estos dos organismos confirmó porque no hay dominancia de especies en las estaciones.

La composición del fitoplancton superficial de la laguna La Viuda se ha caracterizado por la presencia de clorofitas y diatomeas, en otras lagunas altoandinas se han reportado un comportamiento similar, por ejemplo, Montoya y



Benavente (1993) realizaron un estudio de microalgas altoandinas en la localidad de Raura (Lima) donde las Chlorophyta constituyeron el grupo algal dominante (18 géneros y 29 especies) pero predominaron la familia desmidiaceae; Mariano (2001) mencionó que en la laguna Tranca Grande (Junín, Perú) hay predominancia de clorofitas (75.86%) seguido de diatomeas (21.15%), sin embargo difieren en los organismos fitoplanctónicos más representativos, el número de taxones es variable y en mayor número; Baylon *et al* (2018) estudió lagunas altoandinas del departamento de Pasco (Perú) en donde encontró que las diatomeas fueron el grupo más representativo (81.38%) seguido de las clorofitas (11.80%), estos estudios confirman el presente estudio en la predominancia de estos dos grupos fitoplanctónicos, también se evidenció organismos fitoplanctónicos en que se destacó la presencia de *Sphaerocystis* sp. y *Fragilaria* sp., sin embargo el número de taxa y los parámetros fisicoquímicos fueron notablemente diferentes. En el 2015 se presentó un informe de evaluación ambiental del lago Junín por OEFA (2015), donde las diatomeas tuvieron la mayor abundancia (49.28 %) seguido del phylum Charophyta (19.41 %) y en tercer lugar las clorofitas (17.65 %), sin embargo; los parámetros fisicoquímicos, el número de taxas y los organismos más representativos también son diferentes con respecto a la laguna La Viuda; Herrera y Lara (2016) encontraron que en la laguna Challhuacocha, el grupo taxonómico más abundante fue Bacillariophyceae en agua superficial y media, sin embargo también hay diferencias en el grupo más representativo. Tumialán (2017), menciona en su estudio de la laguna Pumacocha, que las diatomeas fueron los de mayor prevalencia para las zonas superficial y profunda, pero también hay diferencias entre los géneros y especies más representativas así como el número de taxas; las diferencias de estas lagunas altoandinas puede explicarse por el tamaño de las lagunas estudiadas, mientras que la superficie de la laguna Tranca Grande es de 164 ha, laguna Lacsacocha con 44.8 ha, laguna Yanamate con 180 ha, laguna Quiulacocha con 114 ha, laguna Milpo Andina con 11 ha, laguna Huaroncocha con 1058 ha, Lago Junín con 53 000 ha, laguna Chalhuacocha de 41.7 ha, laguna Pumacocha de 14.8 ha, la laguna La Viuda tiene unos 10.3 ha aproximadamente, es más pequeña. Otro aspecto a tener en cuenta es la concentración de los nutrientes que hay en un cuerpo de agua y que puede generar la competencia entre los organismos, algunos autores mencionan que en épocas de lluvias aumenta la diversidad del fitoplancton, otro factor a tener en cuenta es la



transparencia, el número de taxones presentes también se debe a los cambios de substratos geológicos y generan variaciones en las condiciones químicas Mariano (2001), Tumialán (2017), Herrera y Lara (2016).

### **3. Estimación de la Incertidumbre cualitativa**

El estudio preliminar de fitoplancton nos da una idea descriptiva de cómo es la calidad fisicoquímica y biológica de la Laguna La Viuda, y es por ello que un estudio más exhaustivo donde se conozca la incertidumbre de la identificación (identificación taxonómica y variación de la experiencia de la persona), las fuentes y el tamaño del error de muestreo; y otras incertidumbres en su estimación hace que los índices por ejemplo sean de mayor utilidad (WISER, 2012).

#### Evaluación teórica

En el presente trabajo, el grupo taxonómico que más alto porcentaje de aprobación tuvo en la identificación fueron las diatomeas (100-92.6%), por otro lado, el grupo de los dinoflagelados (90-76.6%) fue el que tuvo el valor más bajo (Tabla 14). Se tuvo que hacer un refuerzo teórico en el personal con el fin de que aprueben en la segunda evaluación teórica y así poder pasar al siguiente nivel de evaluación práctica.

Se comenzó a evaluar el nivel de División con el fin de asegurar una correcta identificación y uso de la clave dicotómica; según Vilches *et al* (2012), una clave dicotómica es un modelo que permite determinar especies a través de la comparación de dos caracteres excluyentes, es decir una serie de caracteres disyuntivos contrapuestos y relacionados de modo tal que eligiendo uno de los dos caminos se transita por unas series de opciones hasta lograr determinar el ejemplar. Un analista capacitado en reconocer un organismo debe saber manejar correctamente la clave taxonómica que esté usando, en este trabajo se usó claves dicotómicas y politómicas, las evaluaciones teóricas fueron hechas de tal manera que los analistas no tengan dudas al momento de realizar una correcta identificación (Anexos 3, 4 y 5), sin embargo, como se observa hubo una mayor facilidad para reconocer una División de otra. En cambio, en la identificación de género para *Oocystis lacustris* y *Nitzshia* sp. se observó que en el examen teórico

los tres analistas tuvieron un alto porcentaje de reconocimiento de géneros en la primera evaluación (Tabla 17). Por ello un aspecto a tener en cuenta con respecto a la identificación taxonómica es la importancia del conocimiento de los nombres de las estructuras de los organismos a evaluar. Pudiera parecer muy obvio esta explicación, pero en la práctica esto no es así, ya que los términos lingüísticos son ignorados y pueden influir grandemente en la incertidumbre del resultado (Regan *et al* 2002). En este estudio las diatomeas presentaron una mayor facilidad de aprobación teórica pues este grupo tienen como característica esencial: sus valvas; en comparación con los dinoflagelados en los cuales estos fueron confundidos con Cianofitas o Clorofitas, y se tuvo una mayor dificultad para el reconocimiento de la terminología teórica.

### Evaluación práctica

En la evaluación practica para el cálculo de la incertidumbre cualitativa, los analistas tuvieron que ser sometidos hasta una tercera evaluación para que todos obtuvieran una incertidumbre de 1 (lo cual indica una probabilidad 1 de reconocer el organismo correctamente), se realizó una tercera evaluación práctica por la dificultad en el reconocimiento visual “*in vivo*” del organismo fitoplanctónico en el microscopio óptico. El aseguramiento de calidad establecido fue de 75% o 0.75, por debajo de este valor el analista no está apto para identificar un organismo a nivel de la División evaluada y por encima de este valor es satisfactorio.

Las algas con mayor facilidad de reconocimiento fueron las diatomeas para los tres analistas, en todas las evaluaciones el valor de la incertidumbre cualitativa estuvo por encima del límite de aseguramiento de calidad (Figura 27, 30 y 33).

Las divisiones que presentaron mayor dificultad en el reconocimiento fueron las clorofitas y los dinoflagelados confundiéndose ambas en la primera evaluación práctica, una característica clave para diferenciar los organismos a nivel de División son la disposición y forma de los plástidos (cloroplastos), corpúsculos como el pirenoide, reservas de almidón, las envolturas, etc. los cuales a los ojos de un no experto se hace dificultoso; asimismo, al no conocerse a que género correspondían los organismos muchas clorofitas fueron confundidas con cianofitas. Esto se mejoró al hacer un refuerzo teórico y práctico de reconocimiento de los organismos.

(Figuras 26,28, 29, 31). Es de aclarar que los analistas 1 y 2 fueron los que mejoraron en su incertidumbre cualitativa, el analista 3 era un referente interno que ha sido comparado con un referente externo acreditado.

*Oocystis lacustris* fue confundida con *Crucigenia* sp. y/o con *Gloeocystis* sp. por el analista 2. En la identificación de género se observa que desde un primer momento se identificó correctamente a los organismos evaluados y tuvieron una incertidumbre de 1 (Tabla 20 y 21), eso se explica porque los analistas una vez que han identificado la División fueron capaces de dar más fácilmente con el género. En el caso de diatomeas, la capacitación previa de la vista cingular y valvar también fue importante. Además, que con una evaluación previa de División los analistas fueron preparados mejor para usar la clave taxonómica y de esta manera ser capaces de identificar el organismo evaluado siguiendo los ramales de la clave de identificación. Es de aclarar que a cada analista se le dio los campos al azar previamente seleccionados, los analistas involucrados no escogieron los campos a criterio propio, en comparación a otros trabajos como el de Lototskaya *et al* (2006) donde se realizó un experimento con la identificación y recuento de diatomeas; y obtuvieron variaciones entre las réplicas de las láminas entre los analistas debido a que los campos escogidos eran diferentes en ambos.

Kahlert *et al* (2012), realizaron un trabajo en el cual comparan la identificación con respecto al conteo de diatomeas para evaluar un estado ecológico de varios ríos, ellos plantean como hipótesis que si se eliminan las principales diferencias en la identificación de los taxones habría una disminución de la variación de los índices de diatomeas, se rechazó la hipótesis y concluyen que no hay efecto de la lista taxonómica armonizada en la variación dentro de la lámina portaobjeto. Ellos explican que esto posiblemente sea debido a la gran cantidad de diatomeas contadas, a mayor cantidad de conteo hay un promedio estable en la abundancia relativa, otra razón pudiera ser la variación de los protocolos nacionales de conteo. La UNE-EN 15204 (2007) menciona que la incertidumbre cualitativa se refiere a la identificación errónea y a la no identificación de los taxones. Esto se basa en comparaciones interlaboratorios e intralaboratorios, y se representa como un porcentaje máximo de identificaciones erróneas. IMARPE (2010) plantea un cálculo de incertidumbre semicuantitativa donde se trabaja con porcentaje máximo de

identificaciones erróneas frente a comparaciones interlaboratorios e intralaboratorios. En este trabajo, el cálculo de la incertidumbre cualitativa no fue realizado de manera subjetiva ni en base a un porcentaje único de identificaciones erróneas comparados con un referente externo, si bien es cierto que los organismos fueron comparados con un referente externo, se usó la aplicación de los cálculos de probabilidades para el cálculo de la incertidumbre cualitativa que compromete la probabilidad de la identificación correcta desde el nivel de División hasta el nivel de género, este cálculo verifica el buen uso de la clave taxonómica. Además se aseguró que cada analista tuviera una incertidumbre de identificación de 1 para poder pasar recién al cálculo de la incertidumbre cuantitativa y poder realizar los conteos respectivos de los organismos aprobados, que “la incertidumbre cualitativa sea 1” no significa que no exista una incertidumbre en el resultado final donde está involucrada la incertidumbre cuantitativa; con el Teorema de Bayes (Pulido *et al*, 2003), se puede saber que probabilidad tiene el analista para identificar correctamente un organismo siguiendo una clave taxonómica; en el trabajo de Kahlert *et al* (2012), se trabajó con varias taxones, se estandarizó una lista taxonómica para los participantes pero esto solo fue a nivel global sin cálculos de probabilidades; así mismo en el presente trabajo, además de trabajar con probabilidades se sugiere que se cuantifique las variables cualitativas involucradas en una clave taxonómica, y propone trabajar solo con dos organismos fitoplanctónicos, por lo que a futuro se plantea que una evaluación de acreditación con su respectivo cálculo de la incertidumbre debe darse a nivel de una taxa con su respectiva probabilidad de identificación.

Se observa que la mayor incertidumbre cualitativa fue dada en el reconocimiento de División de los organismos fitoplanctónicos a diferencia de la identificación de género. Esta se puede explicar porque hubo un entrenamiento previo de la identificación nivel de División con 15 géneros de organismos, los analistas al terminar el experimento tuvieron más experiencia y cuidado al poder identificar el nivel de género sólo con los 2 géneros del experimento, trabajos como el de Lototskaya *et al* (2006) sugieren que la destreza para identificar diatomeas y el tiempo que el analista toma para desarrollar la identificación deben ser considerados, de lo contrario los resultados serán insatisfactorios.

Otro de los inconvenientes que se observó fue la presencia de partículas en las muestras fijadas, hubo laminas que tenían más sedimento o restos vegetales que otras, en consecuencia, esto también dificultó el reconocimiento de los organismos hasta que una buena capacitación en la uniformización de la identificación del organismo de interés logró que la incertidumbre tuviera un valor de 1.

Diversos autores coinciden en que se debe resolver diferencias de la nomenclatura a través de una ronda de comentarios, una evaluación de cuestionarios para ver la complejidad de los taxones de los participantes con el fin de aumentar el nivel de identificación y tener resultados óptimos para hacer una lista taxonómica estandarizada, porque existen taxas complejas que dificultan la identificación (Schiling, 2007; Lototskaya *et al* 2006; Kahlert *et al* 2012). El uso de las claves taxonómicas en la cual se representan las características de las especies en forma numérica supera muchas limitaciones, su uso incorrecto pueden dar resultados incorrectos, esto se sabe entre profesionales y aficionados, en los primeros el definir una especie y en el segundo en errores más simples. Hay dos errores que se observan en una clave dicotómica, uno surge cuando se requiere llegar a descripciones precisas de una particular característica y otra surge cuando se necesita información para una decisión de la clave y que no está disponible (Osborne, 1962).

#### **4. Estimación de la Incertidumbre cuantitativa**

##### **4.1. Estimación de la Incertidumbre del muestreo**

##### **Estimación de la incertidumbre de muestreo para muestra inoculada con *Oocystis lacustris* (*in vitro*)**

La forma de estimar la incertidumbre del muestreo para *Oocystis lacustris* fue con una medida de dispersión relativa: Desviación estándar relativa (RSD), el RSD para el análisis fue de 18.22 % y el RSD para el muestreo fue de 18.20 %, mientras que la incertidumbre total de medición fue de 25.75 % (Tabla 23, 24 y 26). El RSD es una medida de dispersión relativa en el cual no hay un criterio universal para decir que este valor es bajo o alto y dependerá de la naturaleza del analito a medir y del lugar del muestreo (Colubi *et al* s.f) por ello se necesita una serie de estudios para

establecer un límite permisible para cada cuerpo de agua. En este estudio se evaluó un analito que viene a ser "*Oocystis lacustris*" que está en un cuerpo de agua (con características naturales de por si variables); otro factor a tener en cuenta es que se comparó dos objetivos de muestreos diferentes (máxima y mínima concentración del analito en cuestión en dos recipientes de 15 L) por lo que se esperaba un RSD alto; por otro lado, la mayoría de estudios de la incertidumbre de muestreo han sido realizados en suelos, Botta *et al* (2012) menciona que la variabilidad introducida en matriz acuática es más difícil de evaluar. En caso de querer comparar con un valor de RSD máximo podemos decir que si establecemos como referencia un valor de 30-40% (Colubi *et al* s.f.) podríamos decir que la variación entre los objetivos de muestreo es baja (valores por debajo del 30%); por lo que si hay una buena representación del analito en estudio por parte del analista de campo y el analista de laboratorio, esto también se debe el muestreo ha sido realizado *in vitro*, es decir un muestreo simulado en un recipiente que contenía 15 L de agua inoculado con *Oocystis lacustris* y los factores de homogeneización han sido controlados a diferencia de lo que puede suceder en un cuerpo de agua real que presenta variables ambientales propias, como los movimientos superficiales de las aguas, características fisicoquímicas, naturaleza del suelo, etc.

### **Estimación de la incertidumbre de muestreo para muestra inoculada con *Nitzschia* sp (*in vitro*)**

En el caso de *Nitzschia* sp, el RSD para el análisis dio un 50.72%, el RSD del muestreo fue de 28.16% y el RSD de la medición fue de 58.01% (Tabla 30, 31 y 34); este analito "*Nitzschia* sp." a diferencia de *Oocystis lacustris* obtuvo valores de RSD considerablemente alto, sobre todo en relación al análisis, la incertidumbre de la medición fue en consecuencia más alta. La incertidumbre del análisis fue mayor que el de muestreo, esto se explica porque los dos objetivos de muestreo (mínima y máxima concentración) no tuvieron concentraciones muy lejanas entre sí como el caso de *Oocystis lacustris*, en el cual el promedio de la mínima concentración (CI-1) fue de 1.49 cel/mL y el promedio de la máxima concentración fue de 1597.70 cel/mL inoculados), el Z-score para ambas concentraciones fue menor a 2 siendo los recuentos satisfactorios con respecto a un laboratorio de referencia (Tabla 28); en cambio, en el caso de *Nitzschia* sp,, tenemos como promedio de la mínima

concentración (CI-1) a 0.58 cel/mL y a la máxima concentración a 17.58 cel/ml, el Z score para la mínima concentración fue mayor a 3 con respecto a un laboratorio de referencia, es decir los valores son cuestionables para la mínima concentración de *Nitzschia* sp. (Tabla 35). Esto no sucede con máximas de *Nitzschia* sp. que apenas tiene también un valor promedio de 17.58 cel/mL y que a su vez tiene un Z-score de 0.70 por debajo de 2 indicando que los resultados son óptimos para esta concentración al ser comparados con un laboratorio de referencia.

El límite de detección según EURACHEM/CITAC (2012) se establece con el fin de establecer el extremo inferior del rango operativo práctico de un método, es por ello que en este estudio se trabajó con una concentración mínima para el método de ensayo; IMARPE (2010) menciona que el límite de detección es una característica de funcionamiento importante en los estudios de fitoplancton. Hay que tener en cuenta además que estamos frente a cantidades mínimas cercanas a cero donde la probabilidad de que una célula pudiera entrar en el conteo es incierta; según JCGM 200:2012, el límite de detección es un valor medido obtenido mediante un procedimiento de medición, en el cual la probabilidad de declarar erróneamente la ausencia de un constituyente (analito) en un material es  $\beta$  (error de tipo II) y la probabilidad de declarar erróneamente su presencia es  $\alpha$  (error de tipo I), la IUPAC recomienda el valor de 0.05 para  $\alpha$  y  $\beta$ ; por lo tanto, la incertidumbre a valores bajos se incrementa en el resultado del conteo y en los puntos donde el intervalo de incertidumbre incluye al cero (EURACHEM/CITAC 2012); y en consecuencia aumenta la incertidumbre del muestreo.

Otro aspecto a tener en cuenta es el valor del RSD de los recuentos duplicados de las 6 muestras para cada objetivo de muestreo, el RSD para la mínima concentración (CI-1) de *Oocystis lacustris* fue 70.26% y para la máxima concentración (C1-2) fue de 27.75% (es de aclarar que la data presenta normalidad), esto nos indica que hay una mayor variación de los datos con baja concentración de organismos que puede contribuir a la incertidumbre del muestreo (Tabla 28, anexo 22).

En el caso de *Nitzschia* sp. el RSD para la mínima y máxima concentración de los recuentos duplicados de las 6 muestras fue de 65.49 y 61.39 % respectivamente,



los datos fueron normales, pero hay una mayor dispersión de los datos que también pudiera contribuir con la incertidumbre del muestreo (Tabla 35 y anexo 23).

### **Estimación de la incertidumbre de muestreo para *Oocystis lacustris* en muestra proveniente de campo (*in situ*)**

En este caso se trabajó con 4 muestras duplicadas no inoculadas *in situ* de la Laguna La Viuda, aquí no fue posible calcular el Z-score por falta de presupuesto, pero aun así podemos evaluar la concentración de *Oocystis lacustris* para dos objetivos de muestreo diferentes, teniendo en cuenta que el operador de muestreo es el mismo personal que participó en el muestreo inoculado y conocemos su incertidumbre con respecto a *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. Los objetivos de muestreo P1 y P2 no presentaron diferentes concentraciones de *Oocystis lacustris*, el promedio de las concentraciones en ambos sitios de muestreo fue de 1585.27 y 1633.78 cel/mL respectivamente (Tabla 36), un valor no lejano del promedio del recuento de *Oocystis lacustris* de la incertidumbre del muestreo inoculado. Es interesante observar que el RSD de los duplicados para P1 fue 33.38 y para P2 fue de 29.64 %, los datos fueron normales, el RSD del análisis fue de 38.45 % y el RSD del muestreo fue de 0 (en este caso no hay variación) por lo tanto, la incertidumbre del muestreo es nula (Tabla 37 y 40); entonces la incertidumbre de la medición es igual a la del análisis 38.45%. Se deduce que la incertidumbre del muestreo es nula porque los dos puntos de muestreo (P1 y P2) tienen concentraciones cercanas de *Oocystis lacustris* en comparación con el estudio de simulación, *in vitro* de dos objetivos inoculados con diferentes concentraciones (máxima=CI-2 y mínima concentración=CI-1) los cuales intervienen en la variación de muestreo. En cambio, existe variabilidad de los duplicados dentro de una misma muestra que son notorias al desaparecer la incertidumbre de muestreo, aun así, la incertidumbre de la medición es relativamente baja si tomamos un valor referencial del 40%.

### **Estimación de la incertidumbre del muestreo para *Nitzschia* sp en muestra proveniente de campo (*in situ*)**

En el este caso la concentración de *Nitzschia* sp. en la época que se realizó este experimento (noviembre 2017) fue muy baja por debajo del límite de detección del recuento, donde el RSD de los datos duplicados para P1 y P2 fueron de 282.84%



y 195.34 % respectivamente (Tabla 42). Se observa variaciones muy altas, en este caso no se pudo realizar la estimación de la incertidumbre de muestreo porque la data en sí no presentaba normalidad.

De todo esto se puede mencionar que el muestreo es importante porque afecta a la incertidumbre de la medida (ISO 17025). La contribución de esta incertidumbre no se toma en cuenta por desconocimiento, por comodidad científica o por la dificultad en vincular los conceptos ligados a la incertidumbre del muestreo. Para evaluar este tipo de incertidumbre se debe tener en cuenta las diferentes fuentes de incertidumbre del muestreo, la caracterización del sitio de muestreo en términos de la distribución espacial de elementos trazas y ejercicios de intercomparación (Zorzi *et al*, 2002).

Al evaluar la incertidumbre de muestreo de la laguna La Viuda, se deduce que se debe tomar en cuenta: primero, establecer el objetivo de muestreo, el diseño de muestreo, número de replicas durante el muestreo, numero de replicas en el análisis de laboratorio; segundo, evaluar las características propias del cuerpo de agua, en nuestro estudio por ejemplo la laguna La Viuda presenta movimientos superficiales debido al viento, las concentraciones del fitoplancton cambian de acuerdo a la variación estacional en cada objetivo o punto de muestreo; tercero, las características fisicoquímicas varían también con el espacio y tiempo propias del lugar; todo esto al parecer no hace posible definir un límite de calidad propio debido a la naturaleza del lugar del muestreo. Otro punto importante al momento de establecer el muestreo es que siempre hay un esfuerzo para obtener una muestra representativa, pero hay poco esfuerzo o desconocimiento para tener métodos que nos permita calcular la incertidumbre de muestreo. Gran parte de la incertidumbre de muestreo surge de la heterogeneidad del objetivo y el grado de heterogeneidad puede variar de un objetivo a otro según Thompson (2008). La heterogeneidad es el factor más importante en contribuir con la incertidumbre asociada al muestreo EURACHEM/CITAC (2007). Pero en este trabajo al calcular la incertidumbre del muestreo a nivel de laboratorio este no ha sido influenciado notoriamente por las diferencias de las concentraciones de C1 y C2 posiblemente debido a que en un ambiente controlado "*in vitro*" no hay influencias externas como ocurren en un cuerpo de agua real y más grande.

Con respecto a las fuentes de variabilidad con respecto al muestreo, Lindergarth *et al* (2013) realizaron un reporte sobre la incertidumbre de las clasificaciones de la WFD de los elementos de calidad biológica de los cuerpos de aguas con el fin de reducir la incertidumbre debido a diseños de muestreo y determinar qué factores contribuyen con la incertidumbre general, las fuentes de incertidumbre son agrupadas en tres categorías de variación: componentes temporales (en el caso de esta laguna podría ser, la evaluación estacional abril, julio y noviembre), componentes espaciales (en el caso de laguna la Viuda son las doce estaciones de muestreo, concentración de fosforo, viento, etc.) y los componentes asociados con el muestreo y el análisis (en el caso de la laguna La Viuda es el diseño de muestreo estratificado no aleatorio, identificación de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. y recuento según el método de Lackey); para ellos el estudio de la incertidumbre es importante porque con ello buscan mejorar el criterio de evaluación usado en la clasificación del estado de aguas costeras y continentales suecas de acuerdo al WFD (directiva del marco de agua de la CE). En este estudio se calculó la incertidumbre del muestreo para dos organismos fitoplanctónicos (*Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp.) pero se recomienda a futuro estimar la incertidumbre de muestreo por cada analito de interés para este cuerpo de agua; esto es importante porque al igual que otras lagunas altoandinas no están categorizadas y los estándares de calidad son tomados por referencias internacionales, realizar un estudio de clasificación de un cuerpo de agua con su incertidumbre sería un gran avance.

#### 4.2. Estimación de la Incertidumbre del análisis

- **Incertidumbre estándar relativa del número de organismos  $w_z^2$**

La Incertidumbre de la dispersión de microorganismos según la distribución de Poisson para *Oocystis lacustris* (CI-1=Mínima concentración) es de 0.07850 y para CI-2 (máxima concentración) es 0.00112 (Tabla 43 y 44), aquí observamos una mayor variabilidad en CI-1. A bajas concentraciones la incertidumbre tiende a incrementarse (EURACHEM/CITAC, 2012). En el caso de *Nitzschia* sp. CI-1 presento una incertidumbre de 0.24352 mientras que CI-2 presentó una incertidumbre de 0.10725 (Tabla 49 y 50), aquí se observa también un mayor incremento de las incertidumbres al igual que CI-1 de *Oocystis lacustris*. debido a

que los recuentos son bajos y están bordeando el límite de detección (EURACHEM/CITAC, 2012).

- **Incertidumbre estándar relativa de la lectura del conteo de microorganismos  $w_i^2$**

Se realizó el cálculo de la incertidumbre de lectura contando dos veces una misma lámina hasta llegar a un recuento final de 400 células en cada lamina, este criterio fue tomado de Sournia (1978), donde un conteo de 400 células tiene una precisión de  $\pm 10\%$ . La incertidumbre de lectura para *Oocystis lacustris* fue de 0.02 (Tabla 45) y la incertidumbre de lectura de *Nitzschia* sp. fue de 0.70 (Tabla 51), se observa nuevamente que a concentraciones bajas la incertidumbre de lectura aumenta EURACHEM/CITAC (2012). Se quiso realizar una incertidumbre de lectura del conteo por campo microscópico del microorganismo en cuestión pero esto fue imposible, debido a que al momento de encerrar un campo y volver a codificar la lámina, los recuentos obtenidos fueron muy diferentes, si en una primera lectura de campo se encontraba 5 células de *Oocystis lacustris*, en una segunda lectura del campo había 1 o ninguno, esto sucede porque el medio en cual se encuentra el organismo en la lámina es acuoso, no es fijo como en el caso de un medio de cultivo donde el agar para el recuento de bacterias hace que el recuento sea estable. El menor movimiento en la manipulación de las láminas hace que estos organismos se redistribuyan. Una solución a esto puede ser el realizar montajes permanentes con algún tipo de resina que inmovilice a los organismos de interés (APHA 2012 y Sournia 1978) pero hay que tomar en cuenta que no afecte la morfología que servirá para la identificación.

- **Incertidumbre estándar relativa del volumen  $w_v^2$**

La incertidumbre del volumen fue realizada según el tipo B (Niemelä, 2003), utilizando la especificación técnica de la micropipeta, se calculó el RSD el cual fue 0.0036 La incertidumbre del volumen es muy pequeña y no aporta significativamente a la incertidumbre final del conteo a comparación de los otros componentes de la incertidumbre.

- **Incertidumbre estándar relativa de los duplicados de los análisis  $w_{dp}^2$**

La incertidumbre de los duplicados de los análisis fue calculada en base al RSD, el cual fue 0.02 para la máxima concentración de *Oocystis lacustris* (Tabla 47) y 0.98 para la mínima concentración de *Oocystis lacustris* (Tabla 48), aquí también se observa que la incertidumbre fue mayor cuando el recuento está cercano al límite de detección EURACHEM/CITAC (2012).

La incertidumbre de los duplicados de los análisis de *Nitzschia* sp. para la máxima concentración fue de 0.1834 (Tabla 52) y para la mínima fue 0.7595 (Tabla 53), también observamos un aumento de la incertidumbre para los recuentos de la mínima concentración EURACHEM/CITAC (2012).

- **Incertidumbre estándar relativa de la distribución del campo de conteo  $w_c^2$**

La incertidumbre del conteo de campo fue de 10.2259 para la mínima concentración y de 2.0067 para la máxima concentración de *Oocystis lacustris*, mientras que para *Nitzschia* sp. fue de 8.7153 para la mínima concentración y de 48.1076 para la máxima concentración, es decir hay una mayor variabilidad (anexo 30, 31, 32 y 33), aquí se observa un incremento considerable de la incertidumbre lo que afecta el cálculo de la incertidumbre combinada final. Se considera que el fitoplancton puede tener una distribución de Poisson (APHA, 2012; Sournia, 1978; IMARPE, 2010), siguiendo el modelo de Niemelä (2003) la distribución de estos organismos sería binomial negativa porque el valor de  $w_A$  es mayor que  $w_Z$ ; una incertidumbre alta puede afectar el intervalo de confianza dando valores negativos (EURACHEM/CITAC, 2012).

### **Incertidumbre combinada relativa**

Como se observa en la Tabla 54, si combinamos las 5 fuentes de incertidumbre observaremos una incertidumbre grande y los valores del nivel inferior del intervalo de confianza al 95% serían valores negativos. La fuente que más contribuye a que la incertidumbre aumente es la incertidumbre debido a la distribución del campo microscópico. Cuando hacemos un conteo siguiendo el método de Lackey tenemos que contar suficientes campos escogidos al azar hasta llegar a un recuento total de

400 células, entonces considerar la variabilidad del campo microscópico en la incertidumbre total es importante, sin embargo se observa una incongruencia con los niveles inferiores negativos para todos los casos, esto se explica porque posiblemente la distribución de los organismos escogidos no tienen la distribución de Poisson, en este trabajo hubieron varios organismos con diferentes formas celulares dispuestas de manera individual o en colonias, *Nitzschia* sp. fue encontrada en este trabajo en formas individuales salvo situaciones en el cual estuvieron aglomeradas con otros organismos fitoplanctónicos, en el caso de *Oocystis lacustris* estos pueden ser células individuales o agrupadas en un mucilago, el conteo fue realizado en células no en unidades naturales (colonias) porque el objetivo de este trabajo no es involucrar la biomasa donde la variabilidad del tamaño es importante Sournia (1978), un conteo *per se* es suficiente para estudiar la abundancia. Entonces observamos que posiblemente los organismos en estudio no tienen la distribución de Poisson; Sournia (1978) menciona que los organismos fitoplanctónicos pueden tener distribuciones raramente conocidas, incluyéndose la normal, Poisson, Binomial negativa, la log-normal, doble de Poisson, Poisson log-normal,  $\log^p$  normal (donde  $p$  varía según la escala de observación), aunque la distribución que se menciona en los trabajos de fitoplancton es la distribución de Poisson porque describe la distribución de la aleatoriedad y eventos raros. La principal generalización de los trabajos realizados de microdistribución es que los organismos del plancton raramente están distribuidos según la distribución a escala de campo microscópico. En este trabajo, al querer evaluar el tipo de distribución de estos organismos con el programa EasyFit 5.6, este arroja que la data tiene una distribución geométrica (Anexo 34) y en segundo lugar una distribución de Poisson, con esto podemos decir que es probable que los organismos en cuestión no posean la distribución de Poisson por ello los valores del límite a nivel inferior salen negativos, es necesario entonces nuevos estudios para encontrar un cálculo de incertidumbre de acuerdo al tipo de distribución que tienen los organismos y no generalizar.

Cuando obviamos la incertidumbre de conteo por campo (Tabla 55), el  $w_A$  es mayor a  $w_z$  y el modelo que aplica para calcular los límites del intervalo de la incertidumbre es la Binomial negativa, en este caso el nivel inferior siguió teniendo valores negativos para todos excepto para la máxima concentración de *Oocystis lacustris*,

en este caso se optó por retirar la incertidumbre de lectura, el cual era otra fuente que incrementaba la incertidumbre combinada (Tabla 56).

Otra fuente de la incertidumbre que no se consideró en este trabajo fue la Incertidumbre debido a la concentración de la muestra; después del proceso de muestreo, las muestras al llegar al laboratorio son homogenizadas y se procede (dependiendo de la evaluación preliminar del fitoplancton) a concentrar la muestra (si la muestra de agua tiene una densidad algal elevada) o a diluir la muestra (si la muestra de agua tiene una baja densidad algal) para luego proceder con un submuestreo de la muestra (Sournia 1978; Vicente *et al* 2005; APHA 2012). Niemelä (2003), menciona que el factor de dilución es un componente correlacionado y no se le puede aplicar las reglas de los componentes independientes en microbiología; en este estudio al sedimentar la muestra se hizo un proceso de concentración, y por ende hay un factor de concentración (APHA 2012) que se debe considerar como fuente de incertidumbre, pero este factor involucra volúmenes dependientes, entonces es un componente correlacionado donde hay que calcular el coeficiente de correlación e involucra realizar nuevas fórmulas matemáticas (EURACHEM/CITAC 2012).

Finalmente, en este trabajo se consideran solo tres fuentes de incertidumbre donde siguen permaneciendo el modelo de Binomial negativa y donde los límites con valores negativos (para el nivel inferior) solo afecta a las concentraciones mínimas de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. La Guía de la ISO no da instrucciones de como estimar la incertidumbre cuando los resultados son pequeños y la incertidumbre es grande, por lo que puede dejar de aplicarse la ley de propagación con precisión en esta región, aun cuando se observe cantidades negativas la dispersión que incluye valores por debajo de cero no puedan ser razonablemente atribuidos al valor del mensurando, si el mensurando es una concentración no puede ser negativo EURACHEM/CITAC (2012). En el presente estudio se siguió la guía de la EURACHEM/CITAC (2012), se tomó el intervalo para la incertidumbre expandida cercana a cero, ellos mencionan que tomar los valores desde cero hasta el límite superior del intervalo es “truncar el intervalo de confianza cercano a cero” y obvian los valores negativos porque de manera lógica no es posible que la concentración de los organismos sean negativos, esto hasta que estudios posteriores resuelvan

el tema de los tipos de distribuciones que pudieran tener los organismos fitoplanctónicos de acuerdo a una taxa particular. Debemos considerar también que la distribución espacial en un cuerpo de agua es importante porque el diseño del muestreo depende mucho de la distribución de frecuencia subyacente de la población en este fitoplancton, Cassie, (1962) y Sournia (1978) mencionan que los patrones de distribución espacial son clasificados en términos de distribuciones de frecuencia, en términos estadísticos la población puede mostrar subdispersion o sobredispersion, la distribución de Poisson es un intermediado o neutral entre los dos. La distribución binomial es un modelo apropiado para la subdispersión (el cual es menos probable) mientras que la distribución binomial negativa es un modelo apropiado para la sobredispersion.

UNE-EN 15204 e IMARPE (2010) consideran que la incertidumbre cuantitativa depende de la abundancia de cada taxón en la muestra, al disminuir la abundancia aumentara la incertidumbre. El cálculo de la incertidumbre cuantitativa según IMARPE (2010) es calculada como la suma de la reproducibilidad intralaboratorio más la desviación estándar respecto al valor verdadero, es decir del promedio obtenido de los ensayos interlaboratorios. Pazos *et al* (2008) indicaron que la incertidumbre es dependiente de la concentración celular, la incertidumbre relativa disminuye. Es decir que la incertidumbre de la abundancia estimada de un taxón podría ser diferente a la abundancia de otro taxón. La incertidumbre del fitoplancton entonces no puede expresarse como un único valor para cada análisis, cada organismo (por ejemplo: Género) tiene una incertidumbre diferente a otro organismo; por lo tanto, la incertidumbre debe ser calculada por taxón.

## **5. Estimación de la incertidumbre asociada al recuento del fitoplancton obtenido de la laguna La Viuda.**

El estudio de los organismos fitoplanctónicos en aguas continentales presentaron variabilidad como se observó en los muestreos de agosto-2016, noviembre-2016, abril -2017, julio-2017 y noviembre-2017. A nivel descriptivo se observó una tendencia de dominancia en un mes y en otro no, hay diversidad en unas estaciones y en otras no; entonces, los factores fisicoquímicos son muy importantes al momento de explicar un comportamiento, las métricas como por ejemplo los índices de diversidad alfa también son de interés para evaluar una comunidad de especies.



El clasificar el estado trófico de un cuerpo de agua es importante para conocer cuan afectada esta. En caso de querer saber sobre alguna especie de algas tóxicas y que involucra una toma de decisiones por parte de las autoridades también involucra una investigación donde los resultados sean obtenidos con suficiente precisión; por tanto, el valor verdadero de la concentración de un organismo fitoplanctónico es importante.

En las tablas 57 y 61 se encuentran los resultados de la concentración en cel/mL de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. respectivamente sin su incertidumbre, son valores que se utilizarían de acuerdo al tipo de monitoreo que se esté realizando, pero con qué certeza podríamos afirmar que ese valor es el resultado verdadero, sobre todo si los valores fueran muy pequeños. Las tablas 58, 59, 60, 62, 63 y 64 muestran los resultados de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. con sus respectivas incertidumbres: por ejemplo en la tabla 60, para la estación S-03 del mes de noviembre-2017 el resultado fue 1113.95 cel/mL, su límite de incertidumbre tomando 3 fuentes de incertidumbre estuvo entre 812.982 y 1454.86 cel/mL, no decimos que el valor de 1113.95 cel/mL fue el único valor verdadero (porque podría no serlo) sino que el *valor verdadero* está en el rango mencionado pudiendo ser cualquiera de estos valores el *valor verdadero*.

En caso de que la incertidumbre para los valores muy pequeños sea negativa seguimos el criterio de la EURACHEM/CITAC (2012) y obviamos todos los valores negativos; entonces, el límite inferior (LI) en estos casos sería cero. Por ejemplo, en la tabla 62 el resultado de *Nitzschia* sp. para la estación M-04 del mes de abril 2017 es 7.72 cel/mL, el intervalo de incertidumbre tomando 3 fuentes de incertidumbre estuvo entre -2.59 cel/mL y 16.05 cel/mL que en realidad sería 0 cel/mL y 16.05 cel/mL; no decimos que el valor de 7.72 cel/mL es el valor verdadero, sino que el valor verdadero está en el rango mencionado, pudiendo ser cualquiera de estos valores el valor real y verdadero.

En los ejemplos anteriores hemos tomado tres fuentes de incertidumbre, pero si consideramos un cálculo de incertidumbre con cinco fuentes de incertidumbre el rango del límite de la incertidumbre se amplía; por ejemplo, en la tabla 59 el resultado de *Oocystis lacustris* para la estación S-01 del mes de julio – 2017 fue 117.11 cel/mL, su límite de incertidumbre considerando cinco fuentes de



incertidumbre estuvo entre -327.71 cel/mL y 904.79 cel/mL, que en realidad sería 0 cel/mL y 904.79 cel/mL, en estos caso el valor verdadero se encuentra en un rango más amplio debido a la variabilidad de las fuentes involucradas, en este caso la fuente de mayor variación fue la incertidumbre de campo microscópico (Tabla 54). En caso de que se considere a futuro incluir la incertidumbre de campo microscópico debe realizarse estudios de modelos de distribución de frecuencia para la distribución espacial de los organismos al cual se le realizará el cálculo de la incertidumbre, pues no todos los organismos tienen el comportamiento de distribución de Poisson o la Binomial negativa, el saber qué tipo de distribución tiene exactamente un determinado organismo permitiría realizar cálculos de la incertidumbre de tal manera que el valor verdadero se encuentre en un rango más estrecho.

Con respecto a los índices de diversidad alfa incluyendo la incertidumbre del recuento de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp., para el mes de abril (otoño) del 2017 (Anexo 36), el índice de Riqueza de Margalef sigue indicando que las estaciones presentan una diversidad media, y que las estaciones M-02, I-02, I-03, I-06 y S-04 permanecen con una baja diversidad, a excepción de la estación I-02 el cual pasa a una zona de diversidad media si consideramos el valor más bajo del intervalo de la incertidumbre (LI) tanto para 3, 4 y 5 fuentes de incertidumbres (LI-3, LI-4 y LI-5 respectivamente). El índice de Shannon y Wiener, al incluir las fuentes de incertidumbres, se observó que la estación M-04 sigue siendo la que posee mayor diversidad y la S-05 la más baja diversidad. El índice de diversidad de Simpson (1-D) sigue confirmando que las estaciones M-03, M-04, I-06 e I-05 son las que presentaron mayor diversidad (cercano a 1), el índice recíproco de Simpson sigue confirmando estos valores en estas cuatro estaciones. Finalmente, con respecto a la dominancia al considerar la incertidumbre hay un efecto en ella, en algunos casos la dominancia se mantiene, en otros no, por ejemplo, la estación M-02 deja de ser dominante para dar lugar a la I-03 e M-05 como la más dominante. El índice de Pielou sigue indicando que en la estación I-06 hubo una tendencia a la equitatividad. La especie *Fragilaria* sp. sigue siendo el organismo fitoplanctónico que más predomina en las estaciones.

Con respecto a los índices de diversidad alfa incluyendo la incertidumbre del recuento de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp para julio (invierno) 2017 (Anexo 37), el índice de Margalef sigue considerando a todas las estaciones como zonas de baja diversidad. El índice de Shannon y Wiener mantiene el valor más alto en I-05 y el valor más bajo para S-05, pero se presentan variaciones al compararse con el rango de 1.5-3.5 de este índice debido a que en algunos casos la estación S-01 no está en el rango de 1.5-3.5 y en otras la S-05 ingresa a este rango; el índice de diversidad según Simpson confirma que la I-05 presenta mayor diversidad de especies y que la S-05 presenta la menor diversidad, no hay variación con el índice recíproco de Simpson; asimismo la estación S-05 sigue presentando dominancia de la especie *Sphaerocystis Schroeteri*.; este organismo sigue predominando en las estaciones excepto en I-05 cuando se considera las 5 fuentes de incertidumbre para el límite superior (LS-5) donde *Nitzschia* sp. pasa a ser el organismo que predomina con 20.31 % seguido de *Sphaerocystis Schroeteri* con 14.55 % (Figura 36), la estación con mayor equitatividad sigue siendo la I-05.

Con respecto a los índices de diversidad alfa incluyendo la incertidumbre del recuento de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp para el mes de noviembre 2017 (Anexo 38), el índice de Margalef sigue considerando a todas las estaciones como zonas de baja diversidad. El índice de Shannon y Wiener sigue indicando que la estación con valor más alto fue la I-05 y el valor más bajo la I-02, pero al incorporar la incertidumbre se presentaron valores por debajo de 1.5 (rango inferior del índice), por ejemplo, la estación I-02 tiene un valor de 1.41 cuando se considera las cuatro fuentes de incertidumbre para el límite superior (LS-4), al añadir las cinco fuentes de incertidumbre para el límite superior (LS-5) todos los valores a excepción de I-05 están por debajo de 1.5, y en el caso de LI-5 la estación M-04 está por debajo de 1.5 (1.29). El índice de diversidad según Simpson sigue confirmando que la I-05 presenta mayor diversidad de especies y que la I-02 presenta la menor diversidad excepto si consideramos cuatro o cinco fuentes de incertidumbre para el límite inferior (LI-4, LI-5), donde M-04 aparece como la que tiene la menor diversidad, el índice recíproco de Simpson confirma estos valores; con respecto al índice de Dominancia de Simpson se observaron variaciones al igual que el índice de Pielou, todas las estaciones tendieron a la equitatividad excepto cuando se insertaron cinco fuentes de incertidumbre para el nivel superior (LS-5) donde se

observa que todas las estaciones presentan dominancia y alejamiento de la equitatividad, al considerar tres fuentes de incertidumbre para el nivel superior (LS-3) hay dominancia de I-02 (0.49), al considerar cuatro fuentes de incertidumbre para el límite superior (LS-4) la estación I-02 presenta un valor de 0.51 existiendo dominancia y en el nivel inferior también hay variabilidad con 5 fuentes de incertidumbre (LI-5) donde M-4 aparece como el que tiene más dominancia. También se observó que al insertar la incertidumbre hay un intercambio entre la abundancia de *Oocystis lacustris* y *Elakatothrix gelatinosa*, En LS-5 se observó que *Oocystis lacustris* fue la especie que mas predominó en todas las estaciones, para LS-4 y LS-3 mantiene la abundancia *Oocystis lacustris* excepto en M-04 donde predomina *Elakatothrix gelatinosa*, en el caso de LI-5, *Elakatothrix gelatinosa* fue el organismo que pasó a ocupar el primer lugar seguido de *Oocystis lacustris* (Figura 37), en LI-4 y LI-3 hubo alternancia de estas especies. La concentración de la abundancia del fitoplancton influye en la dinámica de los índices de diversidad alfa; Duarte *et al*/ 1990 menciona que la incertidumbre sobre los índices de la comunidad es al menos parcialmente una consecuencia de la naturaleza de las comunidades de fitoplancton.

Este trabajo reporta el cálculo de la incertidumbre de 3, 4 y 5 fuentes de incertidumbre para comparar el rango del límite de la incertidumbre en un 95%, se plantea que se realice el cálculo de la incertidumbre solo con tres fuentes y que el cálculo del límite sea realizado por cada organismo, en este caso fue para *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. no es viable realizar un solo cálculo para muchos organismos a la vez porque 1) como hemos visto, la variabilidad del fitoplancton es impredecible en los meses del año, aparecen nuevos organismos y otros desaparecen. 2) el analista que realiza el cálculo de la incertidumbre del recuento debe tener una incertidumbre cualitativa de 1 para cada organismo evaluado, no es posible decir que una sola incertidumbre puede ser aplicada para varios organismos a la vez, decir que se tiene una incertidumbre cualitativa de 1 para *Oocystis lacustris* no lo hace competente para reconocer por ejemplo *Crucigenia rectangularis* o *Gloeocystis* sp. 3) un cálculo de la incertidumbre depende además de la incertidumbre del muestreo, el cual es crítico cuando los valores del mensurando son muy bajos, 4) la distribución espacial y el modelo de distribución de frecuencias no es el mismo para cada organismo fitoplanctónico.

Finalmente, este trabajo abre las puertas para estudios posteriores con los cuales podrían mejorarse esta investigación y combinar la incertidumbre de muestreo con la incertidumbre del análisis con el fin de tener un procedimiento para realizar el cálculo de la incertidumbre en organismos fitoplanctónicos.

## CONCLUSIONES

La estimación de la incertidumbre asociada al recuento de fitoplancton obtenido de la laguna La Viuda en base a los organismos aislados *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. aporta con las siguientes conclusiones:

1. Los organismos más abundantes a nivel taxonómico de División fueron las diatomeas y las clorofitas alternándose entre los meses y estaciones evaluadas, donde *Fragilaria* sp. abundó en el mes de abril-2017, *Sphaerocystis schroeteri* predominó en julio-2017 y *Oocystis lacustris* conjuntamente con *Elakatothrix gelatinosa* fueron los más representativos en abundancia para el mes de noviembre-2017.
2. La obtención de la incertidumbre cualitativa para la identificación de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. es 1, un valor obtenido por refuerzos teóricos-prácticos y la uniformización de la terminología usada en la clave taxonómica.
3. La estimación de la incertidumbre cuantitativa de muestreo demuestra que la evaluación in vitro, el  $RSD_{\text{muestreo}}$  para *Oocystis lacustris* fue 18.20% y el  $RSD_{\text{análisis}}$  fue de 18.22%, por lo que evidencia que no existe variabilidad alta entre la mínima concentración (CI-1) y máxima concentración (CI-2) en el sistema simulado y controlado.
4. El valor de  $RSD_{\text{muestreo}}$  in situ para *Oocystis lacustris* igual a 0, se debe a que los objetivos de muestreos (P1 y P2) comparados tienen concentraciones de abundancias altos y cercanos entre sí (1585.27 y 1633.78 cel/mL) con las variables espaciales controladas para *Oocystis lacustris*.
5. El valor del  $RSD_{\text{muestreo}}$  in vitro (28.16%) para *Nitzschia* sp. y un  $RSD_{\text{análisis}}$  alto (50.72 %) es debido a que los valores inoculados de CI-1 y CI-2 fueron cercanos a cero por lo que se incrementa la variabilidad en el análisis.
6. La incertidumbre combinada relativa del recuento ( $w_y$ ) calculada por la ley de propagación de incertidumbre para 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbre en la concentración mínima (CI-1) y máxima concentración (CI-2) de ambos organismos (*Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp.), observó que la mayor

variabilidad es aportada por la incertidumbre de la distribución del campo microscópico y la incertidumbre de la lectura.

7. Los organismos fitoplanctónicos evaluados han presentado una distribución geométrica seguido de una distribución de Poisson por lo que la incertidumbre debido a la distribución del campo microscópico ( $W^2_c$ ) tiene el valor de 10.2259 para CI-1, 2.0067 CI-2 para *Oocystis lacustris*, 8.7153 CI-1 y 48.1076 CI-2 para *Nitzschia*,
8. La variabilidad espacio-temporal del fitoplancton medidos con los índices de diversidad alfa son influenciados por la incertidumbre de los recuentos de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. lo cual demostró que la incertidumbre para un organismo fitoplanctónico determinado debe ser aplicable para una sola área de estudio debido a que tiene características particulares que afectan las características morfométricas del fitoplancton.

## RECOMENDACIONES

1. Involucrar a futuro la incertidumbre cualitativa y del muestreo en el cálculo de la estimación de la incertidumbre del recuento para obtener un solo valor.
2. Realizar estudios de distribución espacial y de modelo de frecuencia estadística que tiene el organismo del cual obtener su incertidumbre de recuento.
3. Se debe considerar la fuente de incertidumbre del campo microscópico en la incertidumbre del recuento del fitoplancton.
4. Realizar el cálculo de la fuente de incertidumbre debido a la concentración de la muestra por ser este un componente correlacionado y dependiente, para esto se debe crear una nueva fórmula matemática similar a la incertidumbre de la dilución de la muestra en microbiología.
5. Establecer límites de aseguramiento de calidad para la incertidumbre del muestreo dependiendo siempre de la variabilidad espacial y temporal de un determinado cuerpo de agua.
6. Se hace un llamado al Estado Peruano para que se categorice ésta y otras lagunas altoandinas y se invierta en proyectos de estudios taxonómicos e índices biológicos para de esta manera clasificar y categorizar los cuerpos de agua de nuestro territorio nacional.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Alvarez C. 2016. Determinación analítica de detergentes en las aguas de los pantanos de villa. Tesis para optar el Título de Licenciada en Química PUCP.

Alvial I., F. Cruces, A. Araneda, M. Grosjean, R. Urrutia. 2008. Estructura comunitaria de diatomeas presentes en los sedimentos superficiales de ocho lagos andinos de Chile central. Revista Chilena de Historia Natural 81: 83-94.  
<http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2008000100007>

ANA. 2014. (en línea). Inventario Nacional de Glaciares y Lagunas del Perú. Acceso 19/11/2017.

Andersen R. 2005. Algal culturing techniques. Phycological society. Londres. 578 pp.

[APHA](#), [AWWA](#), [WEF](#) (American Public Health Association, American Water Works Association, The Water Environment Federation) 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd, 724 pp.

AQUAREF. 2011. La notion d'incertitude quelles phases d'analyse?  
In: [http://www.aquaref.fr/system/files/Aquaref\\_IRSTEA\\_2012\\_IA04\\_Point3.1\\_EIL\\_hydrobio\\_VF.pdf](http://www.aquaref.fr/system/files/Aquaref_IRSTEA_2012_IA04_Point3.1_EIL_hydrobio_VF.pdf)

AQUAREF (Laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques), 2012. Séminaire Aquaref sur les Incertitudes in: [http://www.aquaref.fr/system/files/2011LNE4\\_synth%C3%A8se\\_seminaire\\_incertitudes\\_0.pdf](http://www.aquaref.fr/system/files/2011LNE4_synth%C3%A8se_seminaire_incertitudes_0.pdf)

AQUAREF. 2011. La notion d'incertitude quelles phases d'analyse?  
In: [http://www.aquaref.fr/system/files/Aquaref\\_IRSTEA\\_2012\\_IA04\\_Point3.1\\_EIL\\_hydrobio\\_VF.pdf](http://www.aquaref.fr/system/files/Aquaref_IRSTEA_2012_IA04_Point3.1_EIL_hydrobio_VF.pdf)

Bauer J. Duffy G., Westcott R., 2006. The quality improvement Handbook. Second edition. Editors Quality Management Division ASQ American society for Quality.



Baylón M., Roa K., Libio T., Tapia L., Jara E., Macedo D., Salvatierra A., Dextre A. 2018. Evaluación de la diversidad de algas fitoplanctónicas como indicadores de la calidad del agua en lagunas altoandinas del departamento de Pasco (Perú). *Ecología Aplicada* 17 (1),

Bellinger E., Sigee D. 2010. *Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators*. John Wiley y Sons. 271 pp.

Bertsekas D., Tsitsiklis J. 2008. *Introduction to probability*. Athena Scientific, Belmont, Massachusetts 539 pag.

Bettencourt R. 2017. Traceability and uncertainty in qualitative analysis. Lugar de publicaciòn: EURACHEM. [https://www.eurachem.org/images/stories/workshops/2017-05\\_MU/pdf/presentations/L04\\_Traceability\\_and\\_uncertainty\\_in\\_qualitative\\_analysis\\_-\\_Ricardo\\_Bettencourt\\_da\\_Silva.pdf](https://www.eurachem.org/images/stories/workshops/2017-05_MU/pdf/presentations/L04_Traceability_and_uncertainty_in_qualitative_analysis_-_Ricardo_Bettencourt_da_Silva.pdf)

Botta F., Lepot B., Leoz-Garziandia E., Morin A. 2012. Estimation of sampling uncertainty in lake-water monitoring in a collaborative field trial. *Trends in Analytical Chemistry*. 36.

Caiza W. 2015. *Estadística y probabilidad con R*. Universidad Politécnica salesiana. 175 pag.

Carlson R. 1977. A trophic state index for lakes. *Limnology and oceanography* 22(2):361-369. doi/10.4319/lo.1977.22.2.0361

Carlson R. 1980. More complications in the chlorophyll-Secchi disk relationship. *Limnology and oceanography* 25(2):379-382 DOI: 10.4319/lo.1980.25.2.0379

Cassie R. 1962. Frequency Distribution Models in the Ecology of Plankton and Other Organisms. *Journal of Animal Ecology*. 31 (1): 65-92.

Colubi A., Lubiano A., Terán P. *Estadística Administrativa I (GAP-Oviedo)*. [ocw.uniovi.es/pluginfile.php/4436/mod\\_label/intro/1C.../Tema4\\_EAI\\_teoría.pdf](http://ocw.uniovi.es/pluginfile.php/4436/mod_label/intro/1C.../Tema4_EAI_teoría.pdf)

Cóndor A. 1997. Identificación, aislamiento y selección de microalgas Chlorofitas tolerantes al cobre y zinc procedentes del lago Junín. Tesis para optar el título de biólogo. UNALM.

DS No. 004-2017-MINAM. Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua y establecen Disposiciones Complementarias. 7 de junio de 2017. El Peruano Normas legales.

Duarte C., Marrasé C., Vaqué D., Estrada M. 1990. Counting error and the quantitative analysis of phytoplankton Communities. *Journal of Plankton Research*. 12 (2):295-304.

EPA (Environmental Protection Agency). 1994. Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry. Method 200.7, Revisión 4.4.

EURACHEM/CITAC, 2000. Quantifying uncertainty in analytical measurement. 2da edition.

EURACHEM/CITAC. 2007. Measurement uncertainty arising from sampling A guide to methods and approaches. 1era Edition.

EURACHEM/CITAC, 2012. Quantifying uncertainty in analytical measurement. 3ra edition.

EURACHEM/CITAC. 2019. Measurement uncertainty arising from sampling A guide to methods and approaches. 2nd Edition.

Falasco E., Bona F., Badino G., Hoffmann L., Ector L. 2009. Diatom teratological forms and environmental alterations: a review. *Hydrobiología* 623:1-35

Giannuzzi L. 2009. Cianobacterias y cianotoxinas: identificación, toxicología, monitoreo y evaluación de riesgo. 1ed. Buenos Aires. 238 pp.

Grøn C., Hansen J., Magnusson B., Nordbotten A., Krysell M., Andersen K., Lund U. 2007. Uncertainty from sampling. A Nordetest Handbook for Sampling Planners on Sampling Quality Assurance and Uncertainty Estimation. Norway. 40 pp.

Haase P., Murray J., Lohse S., Pauls S., Sundermann A., Gunn R., Clarke R. 2006. Assessing the impact of errors in sorting and identifying macroinvertebrate. Samples Hydrobiologia 566:505–521

Herrera J., Lara K. 2016. Bioecología de la laguna Challhuacocha y su potencial de uso en periodo de sequía, distrito de Conchucos (Ancash, Perú) 2014. Universidad Nacional del Santa. Tesis para optar el título de Biólogo Acuicultor

IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2010. Procedimientos para el muestreo y ensayo semicuantitativo y cuantitativo del fitoplancton potencialmente toxico.

INACAL (Instituto Nacional de Calidad), 2014. Directriz para la estimación y expresión de la incertidumbre de la medición.

INGEMMET (Instituto geológico, minero y metalúrgico). 2017. (en línea). Carta Geológica Nacional Escala 1: 100,000. Acceso 10/09/2017.

ISO/IEC 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Second edition.

ISO/IEC 17025:2017. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Third edition.

Janus L., Vollenweider R. 1981. The OECD cooperative program on eutrophication. Environment Canada. Scientific series 131.

JCGM (Joint Committee for Guides in Metrology), 2008. Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement.

JCGM 200:2012. International vocabulary of metrology-Basic and general concepts and associated terms (VIM).

Kahlert M., Kelly M., Albert R., Almeida S., Besta T., Blanco S., Coste M., Denys L., Ector L., Frankova M., Hlubikova D., Ivanov P., Kennedy B., Marvan P., Mertens A., Miettinen J., Picinska-Fałtynowicz K., Rosebery J., Tornes E., Vilbaste S., Vogel A. 2012. Identification versus counting protocols as sources of uncertainty in diatom-

based ecological status assessments. *Hydrobiologia*. DOI 10.1007/s10750-012-1115-z

Kostakis M., Thomaidis N. (2017). Qualitative uncertainty (reliability) of chemical identification with High Resolution Mass Spectrometry. Lugar de publicaci3n: EURACHEM. [https://www.eurachem.org/images/stories/workshops/2017-05\\_MU/pdf/presentations/CC06\\_P09\\_Qualitative\\_uncertainty\\_reliability\\_of\\_chemical\\_identification\\_with\\_High\\_Resolution\\_Mass\\_Spectrometry - Marios Kostakis.pdf](https://www.eurachem.org/images/stories/workshops/2017-05_MU/pdf/presentations/CC06_P09_Qualitative_uncertainty_reliability_of_chemical_identification_with_High_Resolution_Mass_Spectrometry_-_Marios_Kostakis.pdf)

Lackey J. 1938. The manipulation and counting of river plankton and changes in some Organisms due to formalin preservation. *Public health reports*. 53(47):2080-2093. doi: 10.2307/4582717

Lande R. 1996. Statistics and partitioning of species diversity, and similarity among multiple communities. *OIKOS* 76: 5-13. doi:10.2307/3545743

Lee R. 2008 *Phycology*. 4ta ed. Cambridge University Press. 547 pp.

Lindegarth M., Carstensen J., Johnson R. 2013. Uncertainty of biological indicators for the WFD in Swedish water bodies: current procedures and a proposed framework for the future. *WATERS Report no. 2013:1. Deliverable 2.2-1*.

Lototskaya A., Verdonschot P., Sinkeldam J. 2006. Uncertainty in diatom assessment: Sampling, identification and counting variation. *Hydrobiologia* (2006) 566:247–260.

Magurran A. 1989. *Diversidad ecol3gica y su medici3n*. Ediciones Vedra. Barcelona. 199 pp.

Magurran A. 2004. *Measuring biological diversity*. Blackwell Science Ltd. 256 pp.

Margalef R. 1958. *Information Theory in Ecology*. *General Systematics*, 3: 36-71.

Margalef R., Duran M., Saiz F. 1955. El fitoplancton de la ría de Vigo de enero de 1953 a marzo de 1954. *Inv. Pesq. Tomo II. Pag 85-129*.

Mariano M. 2001. Composición y estructura de la comunidad fitoplanctónica en la laguna Tranca grande (Junín, Perú). Rev. Peru. Biol. 8(2):114-124.

MINAM (Ministerio del ambiente). 2014. (en línea). Métodos de colecta, identificación y análisis de comunidades biológicas: plancton, perifiton, bentos (macroinvertebrados) y neuston (peces) en aguas continentales del Peru/Departamento de Limnología, Departamento de Ictiología -- Lima: Ministerio del Ambiente. Acceso 19/11/2017.

Montoya H., Benavente M. 1993. Microalgas altoandinas de la localidad de Raura, Lima. Arnaldoa. 1(4):23-72.

Moreno T. 1996. Lagunas altoandinas del sur del Perú: características químicas. Ciencia Desarrollo. 3:89-95. <http://181.176.223.10/index.php/CYD/article/view/66/51>

Movellan J. 2008. Introduction to Probability Theory and Statistics. 127 pag

Niemelä S. 2003. Uncertainty of quantitative determinations derived by cultivation of microorganisms. Finland.

OEFA (Organismo de evaluación y fiscalización ambiental). 2015. INFORME No 00035-2015-OEFA/DE-SDCA-CEAI Informe de Evaluación Ambiental del Lago Chinchaycocha, ejecutado durante el año 2015.

Ogunkunle T. 2014. Properties, users' assessment and applicability of nine types of taxonomic keys in diagnosing some Nigerian species of Ocimum L., Hyptis Jacq. and Ficus L. African Journal of Plant Science 8(1):6-24.

OMS (Organización mundial de la salud). 2011. (en línea). Hardness in Drinking-water, Background document for development of WHO guidelines for Drinking-water Quality. Acceso: 19/11/2017.

Osborne D. 1962. A numerical representation for taxonomic keys. Physics Department, University of British Columbia.

Pazos Y., Mamán L., Delgado M. 2008. Estimación de incertidumbre de recuentos celulares de Dinophysis acuminata por el método Uthermohl: resultado de un

ejercicio de intercalibración interlaboratorio. Avances y tendencias en fitoplancton toxico y biotoxinas. 159-168pp.

Peet R. 1974. The Measurement of Species Diversity. Annual Review of Ecology and Systematics. 5:285-307. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.05.110174.001441>

Peña J., Martinez F., Esparza F., Cañizares R. 2004. Phenotypic plasticity in *Scenedesmus incrassatulus* (Chlorophyceae) in response to heavy metals stress Chemosphere 57:1629-1636.

Prescott, G. 1973. Algae of the Western Great Lakes Area. W.M. C. Brown Company Publisher. 977 pp.

Prescott G. 1978. How to Know Freshwater Algae, Third Edition. McGraw – Hill. 304 pp.

Pulido A., Ruisánchez I., Boque R., Rius F. 2003. Uncertainty of results in routine qualitative analysis. Trends in Analytical Chemistry, 22,647-6.

Regan H., Colyvan M., Burgman A. 2002. A taxonomy and treatment of uncertainty for ecology and conservation biology. Ecological applications. 12 (2):618-628.

Reynolds C., Morison H., Butterwick C. 1982. The sedimentary flux of phytoplankton in the south basin of Windermere. Limnol. Oceanogr. 27(6): 1162-1175. doi: 10.4319/lo.1982.27.6.1162.

RJ No. 056-2018-ANA. Aprueban la clasificación de los Cuerpos de agua continentales superficiales. 13 de febrero de 2018. El Peruano Normas legales.

Resolución Comisión de reglamentos técnicos y comerciales No 0008-2003/INDECOPI-CRT. Aprueban guía para la validación de metodos de ensayo y las directrices para la implementación y evaluación de métodos de ensayos sensoriales. 16 de enero de 2003. El Peruano Normas legales.

Round F., Crawford R., Mann, D. 1990. The diatoms biology and morphology of the genera. cambridge university Press 747 pp.

Salas R. 2011. Phytoplankton precision trials in the enumeration and identification of marine microalgae through the scheme “Biological Effects Quality Assurance in Monitoring Programmes (BEQUALM)”. M.Sc.Thesis submitted to the Department of Life and Physical Sciences, Galway-Mayo Institute of Technology, Dublin Road, Galway.

Samo A., Garmendia A., Delgado J. 2008. Introducción Práctica a la ecología. Pearson educación S.A., Madrid. 248 pp.

Scheiner S., Caplan R., Lyman R. 1991. The genetics of phenotypic plasticity. III. Genetic correlations and fluctuating asymmetries. *J.evol. Biol.* 4:51-68 (1991)

Schilling P. 2007. Quality Assurance of the German Marine Monitoring Programme: The Quality Assurance Panel and Inter-laboratory Comparisons.

Seier E., Joplin K. 2011. Introduction to Statistics in a biological context. East Tennessee State University.

Smith T., Smith R. 2007. Ecología. Pearson. España. 574 pp.

Sournia A., ed. 1978. Phytoplankton Manual, Monogr. Oceanogr.

Stribling J., Moulton S., Lester G., 2003. Determining the quality of taxonomic data. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 22(4):621-631

Stribling J., Pavlik K. 2008. Data quality, performance, and uncertainty in taxonomic identification for biological assessments. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 2008, *J. N. Am. Benthol. Soc.* 27(4):906–91

Thompson M. 2008. Measurement uncertainty arising from sampling: the new Eurachem Guide. AMC TECHNICAL BRIEFS.

Trullols E., Ruisánchez I., Rius X. 2004. Validation of qualitative analytical methods. *Trends in analytical Chemistry*. Vol. 23 (2) 137-145.

Tumialán N. 2017. Comunidad fitoplanctónica de la laguna “Pumacocha” del distrito de Vischongo durante las estaciones de invierno y primavera, Ayacucho -

2014. Tesis para obtener el título profesional de Bióloga en la especialidad de ecología y recursos naturales. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

UNE-EN (Una Norma Española-European Norm) 15204. 2007. Guía para el recuento de fitoplancton por microscopía invertida (técnica de Utermöhl)

UNE-EN 15204. 2007. Norma española. Guía para el recuento de fitoplancton por microscopía invertida (técnica de Utermöhl).

van de Leemput P. 2000. ISO/IEC 17025:1999-The new Standard for Laboratories. *Accred Qual Assur.* 5:394-397. <https://doi.org/10.1007/s007690000203>

Vicente E., Caridad de Hoyos, Sánchez P., Cambra J. 2005. Metodología para el establecimiento el Estado Ecológico según la Directiva Marco del Agua. Protocolos de muestreo y análisis para fitoplancton. Ministerio el medio ambiente. Confederación hidrográfica del Ebro.

Vilches A., Legarralde T., Berasain G. 2012. Elaboración y uso de claves dicotómicas en las clases de biología. Actas III Jornadas de enseñanza e investigación educativa en el campo de las Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de la Plata.

Vollenweider R., Giovanardi F., Montanari G., Rinaldi A. 1998. Characterization of the trophic conditions of marine coastal waters with special reference to the NW Adriatic sea: Proposal for a trophic scale, turbidity and generalized water quality index. *Environmetrics*, 9:329-357. DOI: 10.1002/(SICI)1099-095X(199805/06)9:33.3.CO;2-0.

Vuorio K., Björklöf K., Kuosa H., Jokipii R., Järvinen M., Lehtinen S., Leivuori M., Niemelä M., Väisänen R. 2015. SYKE Proficiency Test 10/2014 Phytoplankton. REPORTS OF THE FINNISH ENVIRONMENT INSTITUTE 29. [www.syke.fi/publications](http://www.syke.fi/publications) / [helda.helsinki.fi/syke](http://helda.helsinki.fi/syke)



Wimalawansa S., Wimalawansa J. 2015. Protection of Watersheds, and Control and Responsible use of Fertiliser to Prevent Phosphate Eutrophication of Reservoirs. International Journal of Research in Environmental Science. 1: 1-18.

WISER (Water bodies in Europe: Integrative Systems to asses Ecological status and Recovery), 2012. Deliverable D3. 1-3, part 2: WISER temporal uncertainty analysis for phytoplankton.

Zorzi P., Belli M., Barbizzi S., Menegon S., Deluisa A. 2002. Accred Qual Assur. 7:182-188. DOI 10.1007/s00769-002-0447-1

## ANEXOS

### Anexo 1. Concepto de probabilidades

#### A. Probabilidad.

La probabilidad está relacionada con tres conceptos principales: Experimento aleatorio, Espacio muestral y Evento.

El experimento aleatorio o fenómeno aleatorio; es un experimento o situación donde todos los posibles resultados son conocidos, pero nosotros no conocemos que resultado realmente sucederá.

Espacio muestral  $S$ ; es el conjunto de todos los posibles resultados de un experimento aleatorio.

Evento: Cualquier subconjunto del espacio muestral. Un evento puede tener uno, varios o ninguno de los resultados.

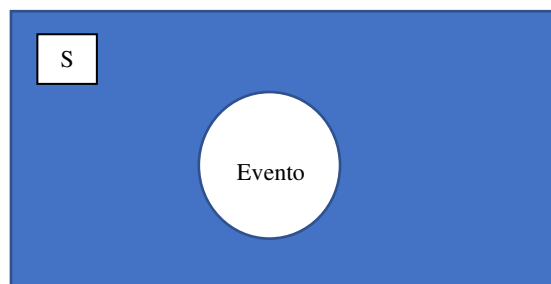


Figura A. El espacio muestral  $S$  es todo el contenido dentro del rectángulo, el evento es un subconjunto dentro del espacio muestral

Ahora bien, la definición clásica de probabilidad, la define como la proporción de resultados en el espacio muestral que están en el evento:

$$\frac{\text{Número de resultados favorables}}{\text{Números de posibles resultados}}$$

Se necesitan dos condiciones para que se dé esto:

- Hay un número finito de resultados

- Todos los resultados son igualmente probables que sucedan

A parte del concepto clásico de probabilidad hay otro concepto de probabilidad como el límite de la frecuencia relativa, cuando  $n$  se aproxima al infinito.

### B. Probabilidad condicional

Es aquella probabilidad en la que un evento  $A$  puede cambiar la probabilidad de  $B$  y es definida como:

$$P\left(\frac{B}{A}\right) = \frac{P(A \cap B)}{P(A)}$$

### C. La regla de la cadena de la probabilidad.

Sea  $\{A_1, A_2, \dots, A_n\}$  una colección de eventos. La regla de la cadena de la probabilidad indica que una vía útil para calcular la probabilidad conjunta del total de colecciones:

$$P(A_1 \cap A_2 \cap \dots \cap A_n) = P(A_1)P\left(\frac{A_2}{A_1}\right)P\left(\frac{A_3}{A_1 \cap A_2}\right) \dots P(A_n/A_1 \cap A_2 \cap \dots \cap A_{n-1})$$

### D. Diagrama de árbol.

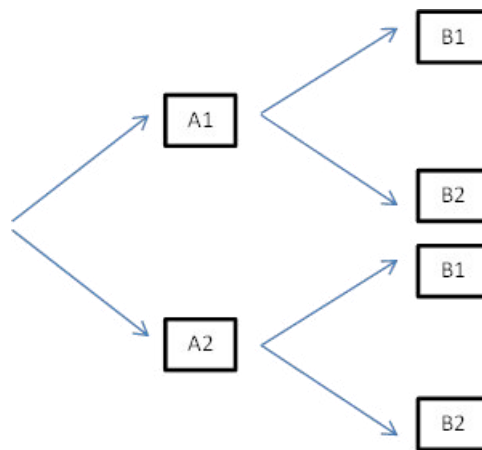


Figura B. Diagrama de árbol para el suceso  $A$  y suceso  $B$ . Adaptado de <http://sauce.pntic.mec.es/~jpeo0002/Archivos/PDF/T02.pdf>

### E. Teorema de la probabilidad total.

Visualizando la probabilidad total de un evento  $B$  en la Figura A.3. Tenemos un evento  $A$  que es todo el espacio muestral y que esta particionado en  $A_1$ ,  $A_2$  y  $A_3$ ,

entonces el evento  $B$  puede ser descompuesto en la unión disjunta de sus intersecciones  $A_i \cap B$  con el conjunto  $A_i$ .

Entonces:

Si  $A_1, A_2, \dots, A_n$  son sucesos incompatibles y cuya unión en el espacio muestral  $(A_1 \cup A_2 \cup \dots \cup A_n = E)$  y  $B$  es otro suceso:

$$P(B) = P(A_1) \cdot P\left(\frac{B}{A_1}\right) + P(A_2) \cdot P\left(\frac{B}{A_2}\right) + \dots + P(A_n) \cdot P\left(\frac{B}{A_n}\right)$$

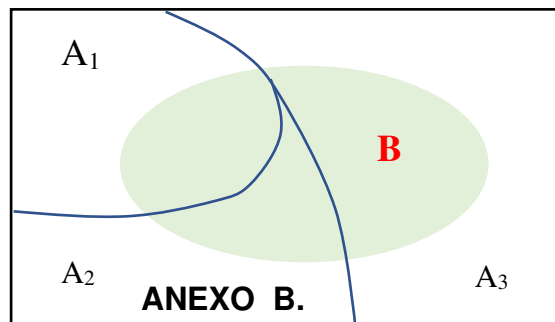


Figura C. Visualización del teorema de la probabilidad total.

## F. Teorema de Bayes

$A_1, A_2, \dots, A_n$  son sucesos incompatibles y cuya unión es el espacio muestral  $(A_1 \cup A_2 \cup \dots \cup A_n = E)$  y  $B$  es otro suceso resulta que

$$p\left(\frac{A_i}{B}\right) = \frac{p(A_i) \cdot p\left(\frac{B}{A_i}\right)}{p(A_1) \cdot p\left(\frac{B}{A_1}\right) + p(A_2) \cdot p\left(\frac{B}{A_2}\right) + \dots + p(A_n) \cdot p\left(\frac{B}{A_n}\right)}$$

## Anexo 2. Glosario de términos

**Condiciones de repetibilidad:** Condición de medición dentro de un conjunto de condiciones que incluye el mismo procedimiento de medición, los mismos operadores, el mismo sistema de medición, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, así como mediciones repetidas del mismo objeto o de un objeto similar en un periodo corto de tiempo.

**Condiciones de reproducibilidad:** condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye diferentes lugares, operadores, sistemas de medición y mediciones repetidas de los mismos objetos u objetos similares.

**Diseño experimental:** Diseño de investigación de estudios experimentales, donde los sujetos o unidades experimentales son asignadas aleatoriamente a diferentes tratamientos y se reportan los valores de una o más variables respuestas.

**Diseño observacional** Diseño de investigación de estudios observacionales, donde se mide las variables de interés o cuestionarios mientras tratamos de ser lo más neutrales posible e interferir lo menos posible.

**Exactitud:** Grado de concordancia entre un valor medido y un valor verdadero de un mensurando.

**Factor de cobertura**, es un factor numérico usado como un multiplicador de la incertidumbre estándar combinada para obtener una incertidumbre expandida.

**Incertidumbre analítica**, Incertidumbre derivada del proceso de análisis.

**Incertidumbre del muestreo**, Es la incertidumbre debida al muestreo de una matriz y usando aquellas muestras para representar el total de la masa muestreada.

**Incertidumbre estándar** ( $u$ ) es igual a la desviación estándar

**Incertidumbre estándar combinada** ( $u_c$ ) incertidumbre estándar obtenida de las incertidumbres de los componentes de un resultado, una única desviación estándar.

**Incertidumbre estándar expandida** ( $U$ ). Se obtiene al multiplicar la incertidumbre estándar combinada  $u_c$  con el factor de cobertura  $K$ .

**Incertidumbre estándar relativa combinada** ( $w_y$ )

**Incertidumbre estándar relativa**, es la incertidumbre estándar dividida por la media ( $w$ ).

**La Incertidumbre de la medición**, es el Parámetro, asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que pueden ser

razonablemente atribuidos al mensurando. Esta incertidumbre de la medición tiene dos contribuciones: muestreo y análisis.

**Material de referencia:** Material suficientemente homogéneo y estable con respecto a propiedades especificadas, establecido como apto para su uso previsto en una medición o en un examen de propiedades cualitativas. Pueden servir para controlar la precisión de la medición, calibración o veracidad.

**Mensurando**, es un término general para cualquier cantidad particular sujeto a medición.

**Muestra de laboratorio**, es una muestra preparada para ser enviada al laboratorio y destinada a la inspección o prueba.

**Muestra de prueba**, es una muestra preparada a partir de la muestra de laboratorio a partir de la cual se retiran las porciones de prueba para el análisis.

**Muestra primaria**, están frecuentemente compuestos por un número de materiales colectados individualmente, los cuales son combinados para formar una muestra compuesta antes de que se realice una medición.

**Objetivo del muestreo**, Porción de material en un momento particular que la muestra pretende representar.

**Porción de prueba**, cantidad de material, de tamaño apropiado para medir la concentración u otra propiedad de interés, retirado de la muestra de prueba de la concentración u otra propiedad de interés, removida de la muestra de prueba.

**Precisión:** Grado de concordancia entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de un mismo objeto o de objetos similares bajo condiciones especificadas.

**Repetibilidad:** Precisión de medición bajo un conjunto de “condiciones de repetibilidad”.

**Reproducibilidad:** Precisión de medición bajo un conjunto de “condiciones de reproducibilidad”.

**Sampling target o un objetivo de muestreo**, es la porción de material, en un particular tiempo, que la muestra pretende representar. Un objetivo de muestreo necesita ser definido antes de diseñar el plan de muestreo.

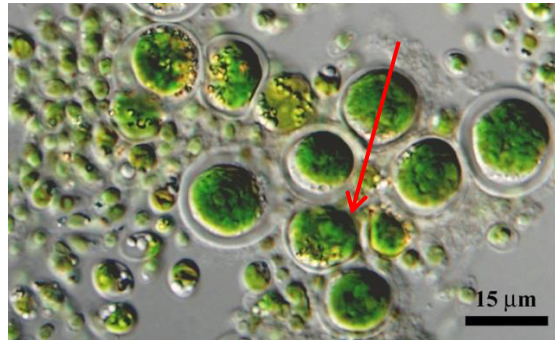
**Sub-muestra**, es una muestra tomada de una muestra de una población.

### Anexo 3. Examen taxonómico de divisiones de algas.

CÓDIGO DEL EVALUADO: \_\_\_\_\_

Cada pregunta vale 5 puntos, total puntaje: 200 puntos

**PREGUNTA 1.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

B) Señale el nombre de la estructura (flecha en rojo):

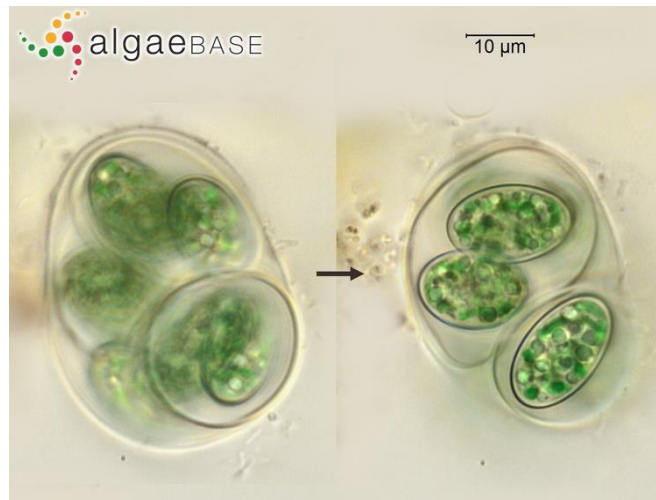
\_\_\_\_\_

**PREGUNTA 2.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

**PREGUNTA 3.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

**PREGUNTA 4.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:

B) Mencione que vista se observa



**Respuesta:**



**PREGUNTA 5.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:  
B) Mencione que vista se observa



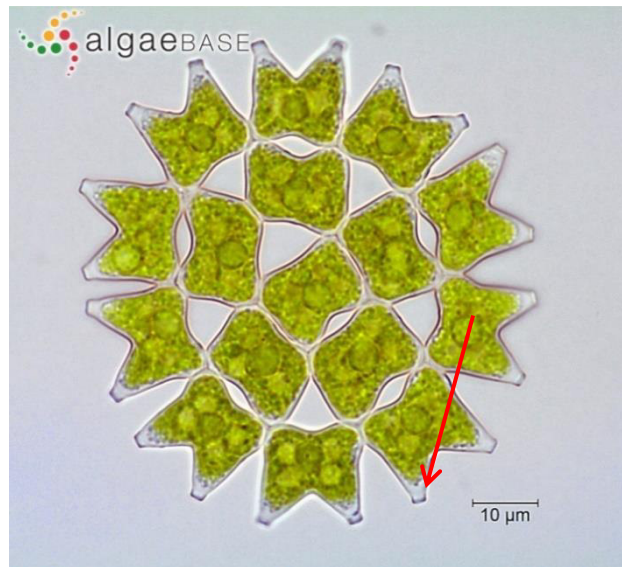
**Respuesta:**

**PREGUNTA 6.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:  
B) Mencione que vista se observa



**Respuesta:**

**PREGUNTA 7.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

B) Señale el nombre de la estructura (flecha en rojo):

---

**PREGUNTA 8.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

**PREGUNTA 9.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



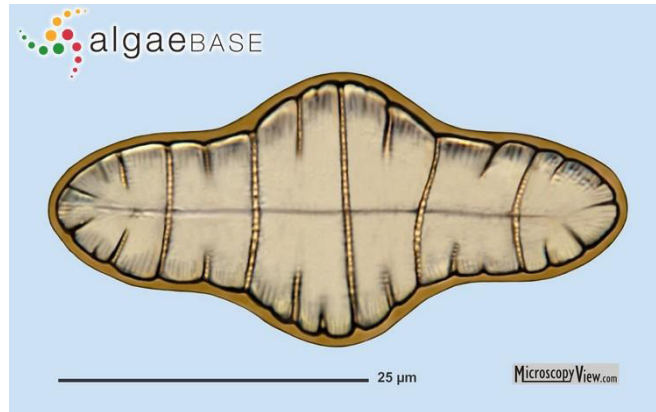
**Respuesta:**

**PREGUNTA 10.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

**PREGUNTA 11.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:  
B) Mencione que vista se observa



**Respuesta:**

**PREGUNTA 12.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:  
B) Mencione que vista se observa



**Respuesta:**

**PREGUNTA 13.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:  
B) Mencione que vista se observa



**Respuesta:**

**PREGUNTA 14.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

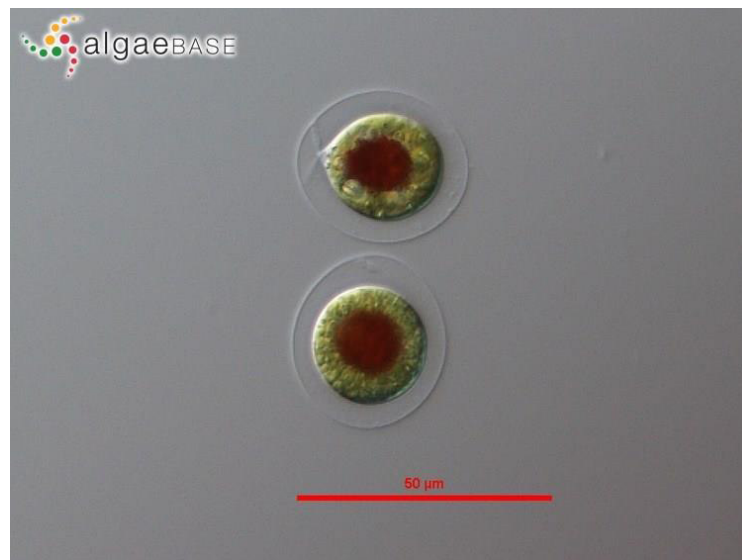


**PREGUNTA 15.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



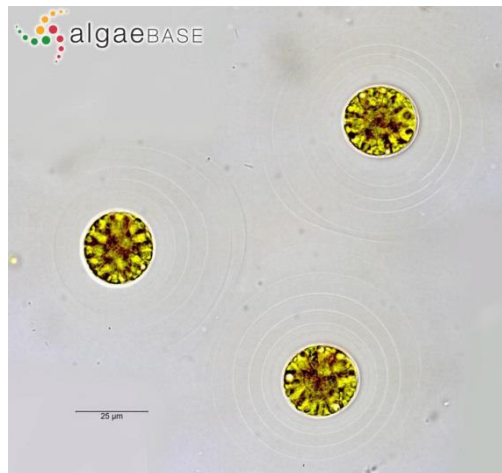
**Respuesta:**

**PREGUNTA 16.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



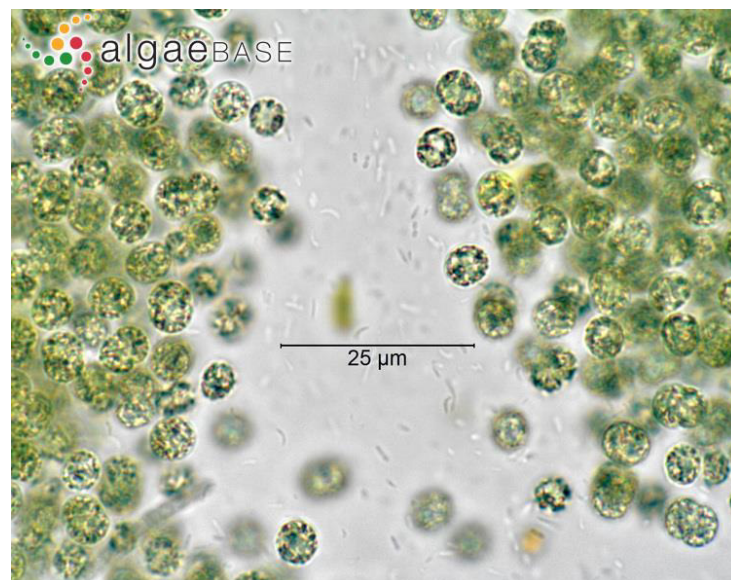
**Respuesta:**

**PREGUNTA 17.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

**PREGUNTA 18.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



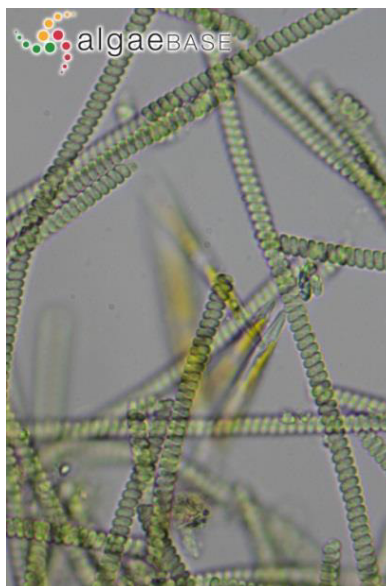
**Respuesta:**

**PREGUNTA 19.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

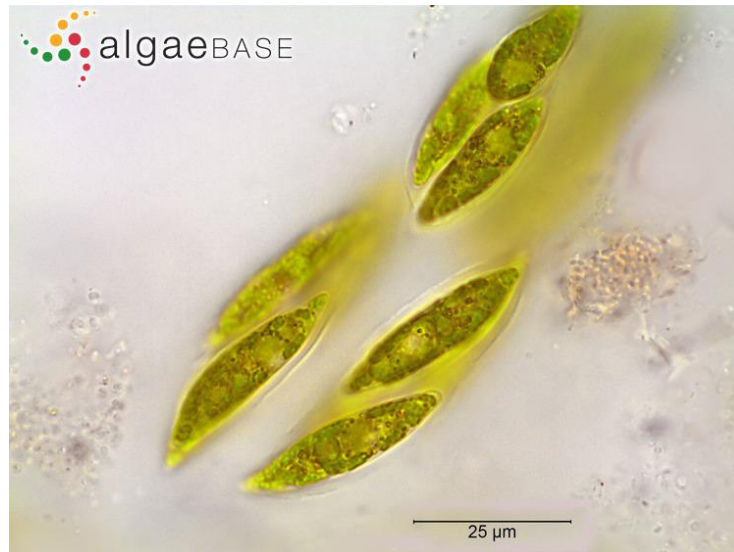
**PREGUNTA 20.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**



**PREGUNTA 21.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



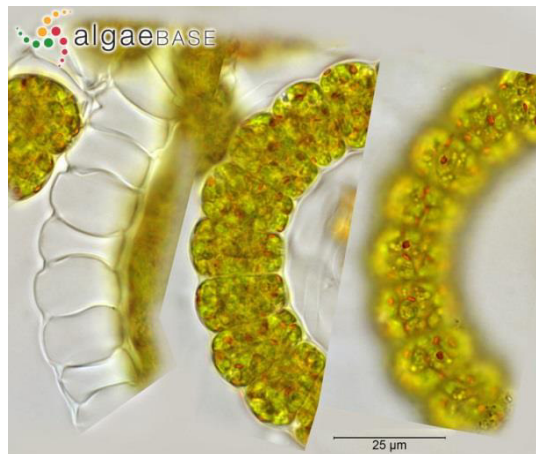
**Respuesta:**

**PREGUNTA 22.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

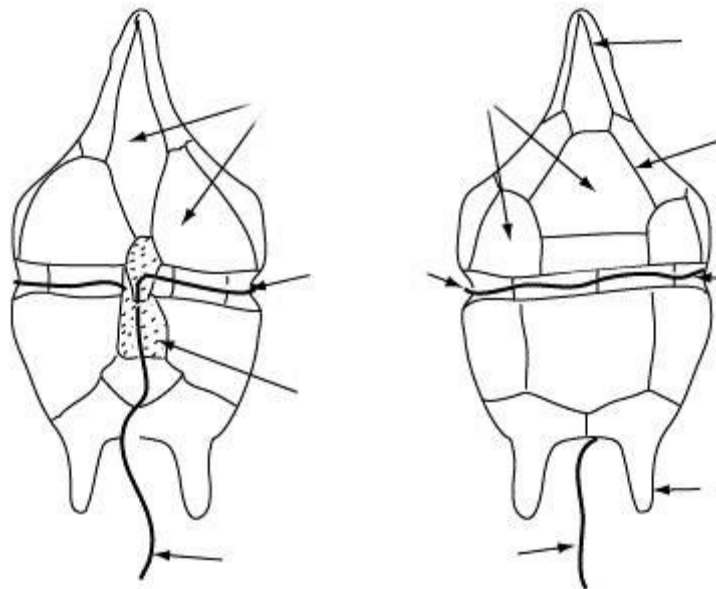
**PREGUNTA 23.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



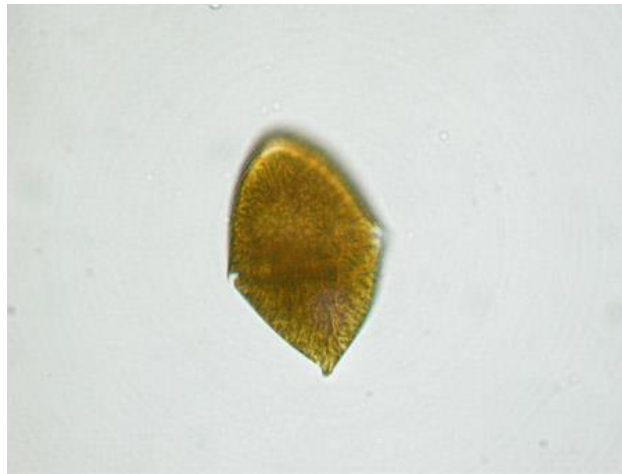
**Respuesta:**

**PREGUNTA 24.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:

B) Indique las partes señaladas con las flechas negras.

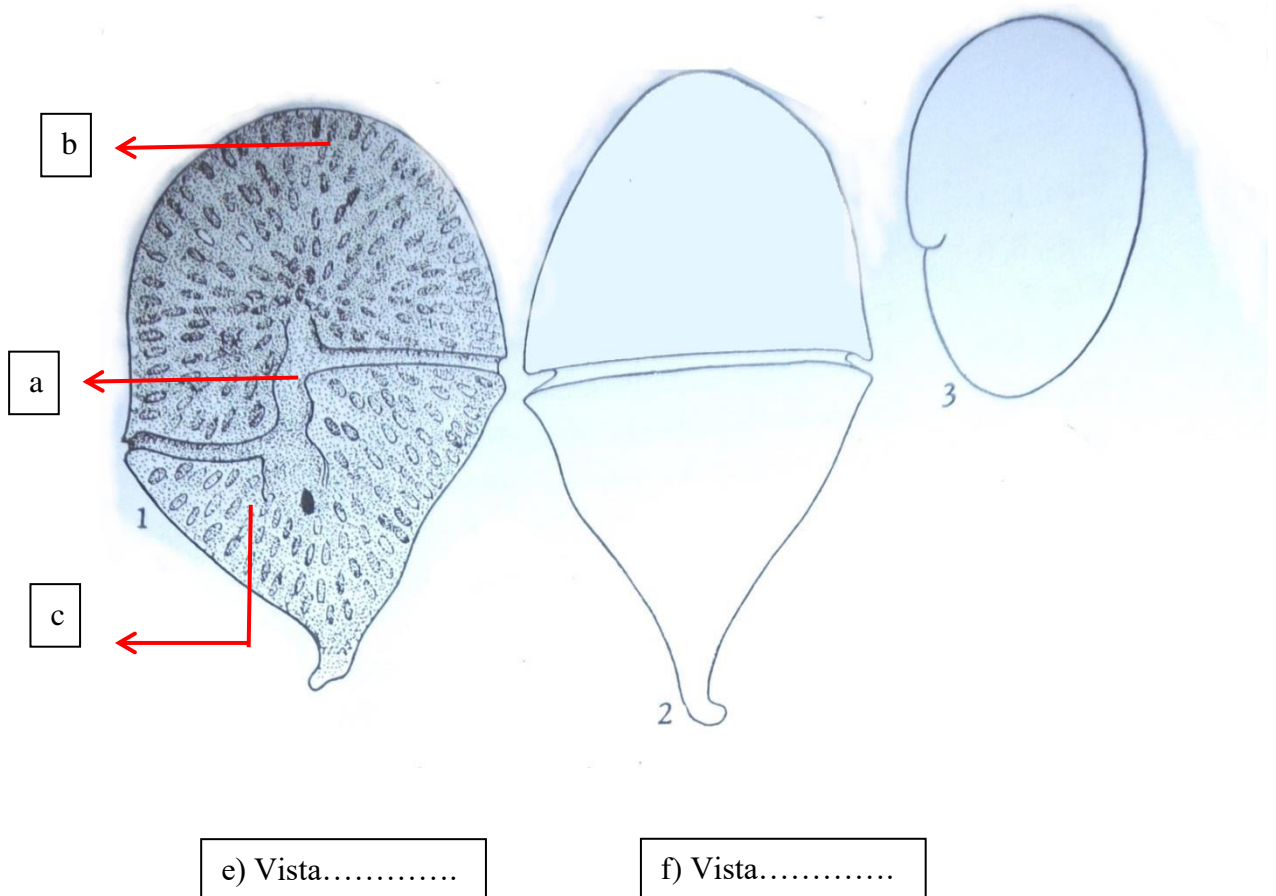


**PREGUNTA 25.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

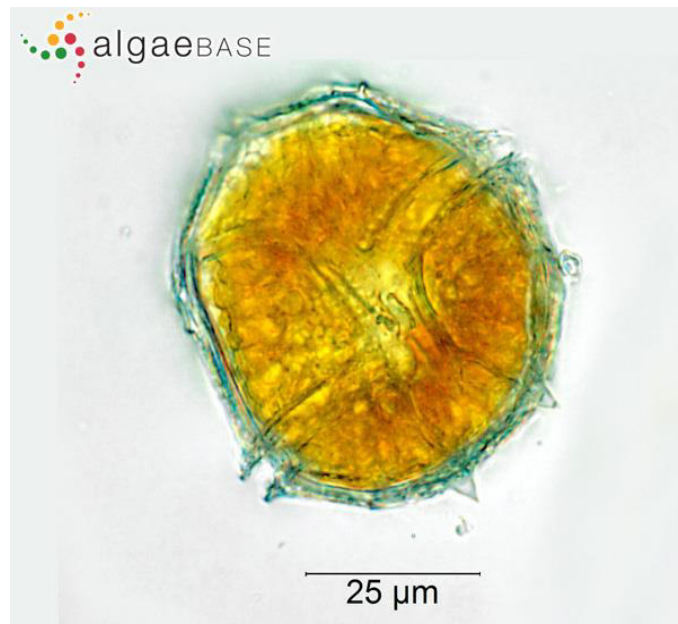
**PREGUNTA 26.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



B) INDIQUE LAS PARTES SEÑALADAS EN ROJO ( las tres figuras pertenecen a un mismo organismo):

- a)
- b)
- c)
- e)
- f)

**PREGUNTA 27.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

**PREGUNTA 28.** Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



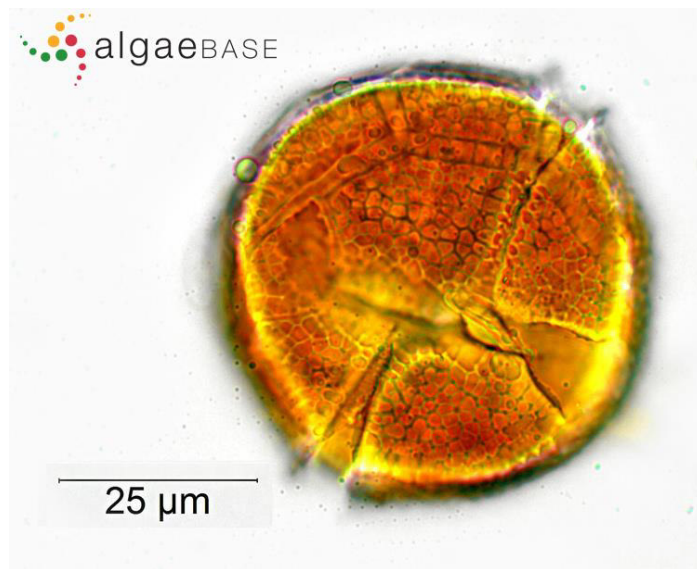
**Respuesta:**

**PREGUNTA 29.** Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

**PREGUNTA 30.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

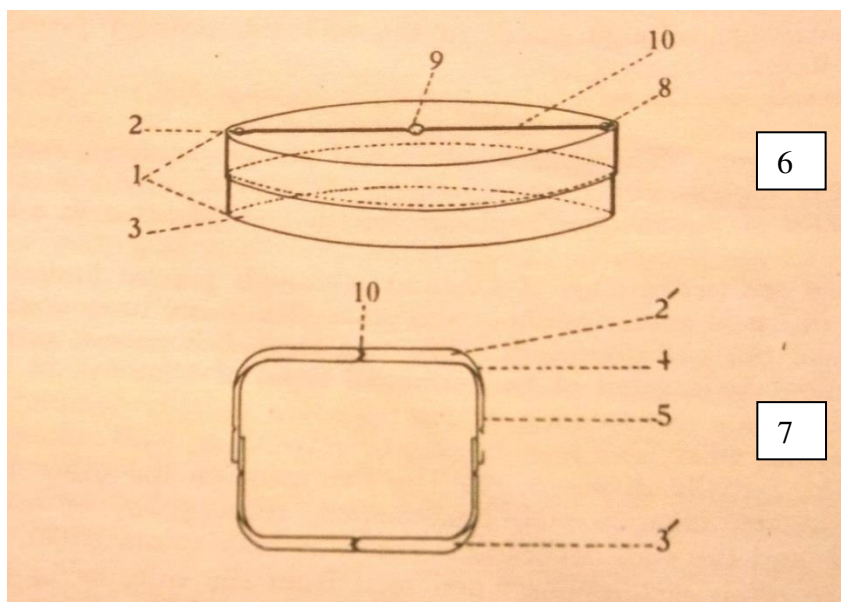
**PREGUNTA 31.** Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**



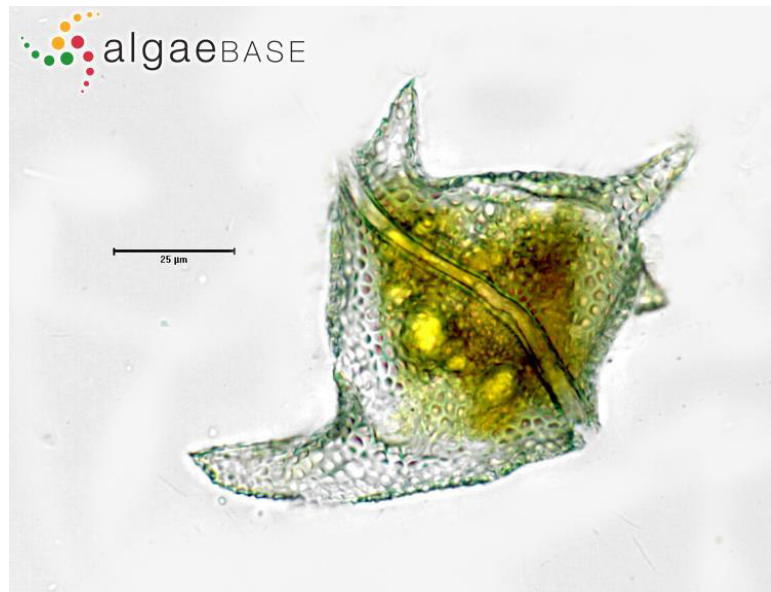
**PREGUNTA 32.** Coloque los nombres que corresponden a los números del gráfico.



**Respuesta:**

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_
5. \_\_\_\_\_
6. \_\_\_\_\_
7. \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_
8. \_\_\_\_\_
9. \_\_\_\_\_
10. \_\_\_\_\_

**PREGUNTA 33.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**

**PREGUNTA 34.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Respuesta:**



**PREGUNTA 35.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**PREGUNTA 36.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:

B) Mencione que vista se observa



**Respuesta:**

**PREGUNTA 37** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:  
B) Mencione que vista se observa



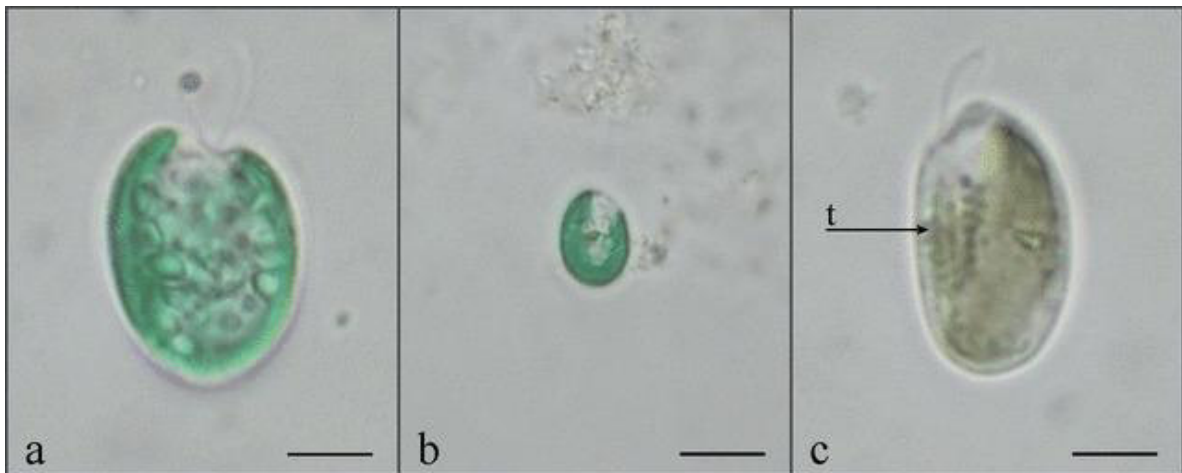
**Respuesta:**

**PREGUNTA 38.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:  
B) Mencione que vista se observa



**Respuesta:**

**PREGUNTA 39.** A) Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



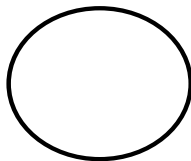
**B) INDIQUE LA ESTRUCTURA SEÑALADA EN NEGRO DE LA FIGURA c:**

**PREGUNTA 40. A)** Identifique a que División pertenece la siguiente imagen:



**Repuesta:**

## Anexo 4. Formato para la identificación de género de diatomeas según Prescott (1973).



LABORATORIO DE FITOPLANCTON

Nº Orden:

IDENTIFICACIÓN DE GÉNEROS DE ORGANISMOS FITOPLANCTÓNICOS

Fecha de inicio y hora:

Fecha de termino y hora:

Prescott G.W. 1973. Algae of the western great lakes area. WM. C. Brown company publishers, Dubuque, Iowa. 977 pp.

Codificación clave dicotomica			Código del organismo evaluado				
<b>DIVISIÓN</b>	<b>BACILLARIOPHYTA</b>						
1'	14						
1''	2						
2'	Chaetoceros						
2''	3						
3'	Hydrosera						
3''	4						
4'	5						
4''	8						
5'	Actinocyclus						
5''	6						
6'	Cyclotella						
6''	7						
7'	Coscinodiscus						
7''	Stephanodiscus						
8'	Biddulphia						
8''	9						
9'	Campylodiscus						
9''	10						
10'	11						
10''	12						
11'	Cymatopleura						
11''	Surirella						
12'	Cocconeis						
12''	13						
13''	Denticula						
13''	Diploneis						
14'	Terpsinoe						
14''	15						
15''	16						
15''	18						
16'	17						
16''	Melosira						
17'	Attheya						
17''	Rhizosolenia						
18'	Melosira						
18''	19						
19'	Centronella						

Codificación clave dicotómica			Código del organismo evaluado				
19''	20						
20'	21						
20''	30						
21'	Asterionella						
21''	22						
22'	Meridion						
22''	23						
23'	24						
23''	25						
24'	Ceratoneis						
24''	Amphicampa						
25'	Tabellaria						
25''	26						
26'	Tetracyclus						
26''	27						
27'	28						
27''	29						
28''	Diatoma						
28''	Opephora						
29'	Fragilaria						
29''	Synedra						
30'	31						
30''	34						
31'	Hantzschia						
31''	32						
32'	Ephithemia						
32''	33						
33'	Amphora						
33''	Cymbella						
34'	Gyrosigma						
34''	35						
35'	Cymatopleura						
35''	36						
36'	37						
36''	38						
37'	Campylodiscus						
37''	Surirella						
38'	Actinella						
38''	39						
39'	Amphiprora						
39''	40						
40'	41						
40''	43						
41'	Rhoicosphenia						
41''	42						
42'	Cocconeis						
42''	Achnanthes						

Codificación clave dicotómica			Código del organismo evaluado				
43'	44						
43''	45						
44'	Peronia						
44''	Eunotia						
45'	46						
45''	51						
46'	Cylindrothecca						
46''	47						
47'	48						
47''	49						
48'	Rhopalodia						
48''	Denticula						
49'	Hantzschia						
49''	50						
50'	Bacillaria						
50''	Nitzschia						
51'	52						
51''	53						
52'	Gomphoneis						
52''	Gomphonema						
53'	54						
53''	55						
54'	Diatomella						
54''	Mastogloia						
55'	56						
55''	58						
56'	Diploneis						
56''	57						
57'	Amphipleura						
57''	Frustulia						
58'	Amphiprora						
58''	59						
59'	60						
59''	62						
60'	Anomoeneis						
60''	61						
61'	Neidium						
61''	Caloneis						
62'	Scoliopleura						
62''	63						
63'	Brebissonia						
63''	64						
64'	Stauroneis						
64''	65						
65'	Pinnularia						
65''	Navicula						
Nombre científico del organismo evaluado							

Equipos

Microscopio

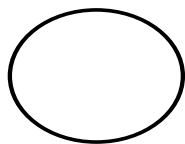



Observaciones:

Analista	Supervisor de Laboratorio	Fecha de emisión
----------	---------------------------	------------------

FFit-001  
Versión 01  
12/05/2016

# Anexo 5. Formato para la identificación de género de clorofitas según Prescott (1973).



LABORATORIO DE FITOPLANCTON

IDENTIFICACIÓN DE GÉNEROS DE ORGANISMOS  
FITOPLANCTÓNICOS

Fecha de inicio y hora:  
Fecha de termino y hora:

Prescott G.W. 1973. Algae of the western great lakes area. WM. C. Brown company publishers, Dubuque, Iowa. 977 pp.

Codificación clave dicotomica			Código del organismo evaluado				
DIVISIÓN	CLOROPHYTA						
CLASE							
	Chlorophyceae						
	Charophyceae						
Orden							
	Chamaesiphonales						
	Chroococcales						
	Volvocales						
	Tetrasporales						
	Zygnematales						
	Ulotrichales						
	Cylindrocapsales						
	Microsporales						
	Cladophorales						
	Oedogoniales						
	Schizogoniales						
	Chaetophorales						
	Chlorococcales						
	Siphonales						
	Charales						
	Hormogonales						
Familia							
	Polyblepharidaceae						
	Phacotaceae						
	Haematococcaceae						
	Volvocaceae						
	Spondylomoraceae						
	Chlamydomonadaceae						
	Chlorangaceae						
	Coccomyxaceae						
	Tetrasporaceae						
	Palmellaceae						
	Zygnemataceae						
	Ulotrichaceae						
	Schizomeridaceae						
	Sphaeropleaceae						
	Cylindrocapsaceae						
	Microsporaceae						
	Cladophoraceae						
	Oedogoniaceae						
	Protococcaceae						
	Coleochaetaceae						
	Trentepohliaceae						
	Chaetophoraceae						
	Endosphaeraceae						
	Hydrodictyceae						
	Chlorococcaceae						
	Coelastraceae						
	Botryococcaceae						
	Oocystaceae						

Codificación clave dicotómica			Código del organismo evaluado				
	Characiaceae						
	Scenedesmaceae						
	Philosiphonaceae						
	Vaucheriaceae						
	Characeae						
<b>Género</b>							
	Pyramimonas						
	Haematococcus						
	Stephanosphaera						
	Volvox						
	Pleodorina						
	Eudorina						
	Pandorina						
	Gonium						
	Platydorina						
	Spondylomorum						
	Carteria						
	Chlamydomonas						
	Eladatothrix						
	Dispora						
	Asterococcus						
	Gloeocystis						
	Palmella						
	Palmodictyon						
	Pleurodiscus						
	Spirogyra						
	Mougeotiopsis						
	Debarya						
	Mougeotira						
	Zygogonium						
	Zygnemopsis						
	Zygnema						
	Uronema						
	Ulothrix						
	Geminella						
	Radiofilm						
	Hormidiopsis						
	Binuclearia						
	Stichococcus						
	Ulothrix						
	Hormidium						
	Schizomeris						
	Sphaeroplea						
	Cylindrocapsa						
	Microspora						
	Basiclada						
	Rizoclonium						
	Cladophora						
	Pithophora						
	Bulbochaete						
	Oedogonium						
	Protococcus						
	Coleochaete						
	Chaetosphaeridium						
	Dicranochaete						
	Gongrosira						
	Trentepohlia						
	Aphanochaete						
	Chaetonema						
	Draparnaldia						
	Stigeoclonium						
	Chaetophora						



Codificación clave dicotómica			Código del organismo evaluado				
	Microthamnion						
	Entocladia						
	Chaetopeltis						
	Pseudodulcella						
	Protoderma						
	Chlorochytrium						
	Kentrosphaera						
	Hydrodictyon						
	Euastropsis						
	Pediastrum						
	Sorastrum						
	Desmatractum						
	Chlorococcum						
	Golenkinia						
	Acanthosphaera						
	Coelastrum						
	Botryococcus						
	Zoochlorella						
	Tetraedron						
	Cerasterias						
	Treubaria						
	Chlorella						
	Planktosphaeria						
	Eremosphaera						
	Excentrosphaera						
	Echinosphaerella						
	Oocystis						
	Franceia						
	Lagerheimia						
	Kirchneriella						
	Ankistrodesmus						
	Schroederia						
	Closteriopsis						
	Dictyosphaerium						
	Quadrigula						
	Nephrocytium						
	Westella						
	Dimorphococcus						
	Dactylococcus						
	Gloeotaenium						
	Selenastrum						
	Polyedriopsis						
	Tetraedron						
	Characium						
	Scenedesmus						
	Actinastrum						
	Tetradismus						
	Crucigenia						
	Micractinium						
	Tetrastrum						
	Tetrallantos						
	Dichotomosiphon						
	Vaucheria						
	Nitella						
	Tolypella						
	Chara						

Equipos

Microscopio




Observaciones:

Analista	Supervisor de Laboratorio	Fecha de emisión
----------	---------------------------	------------------

FFit-001  
Versión 01  
12/05/2016

## Anexo 6. Ingredientes de los medios de cultivos empleados en el aislamiento de microalgas

Tabla 6.1. Contenido y composición del Medio basal claro modificado usado en 1 L de agua destilada según (Condor, 1997)

Ingredientes	Cantida usada (mg)
NaNO <sub>3</sub>	250,00
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	175,00
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	25,00
MgSO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	75,00
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	75,00
NaCl	25,00
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,25
Vitaminas	(ng/L)
Tiamina	0,10
Biotina	0,50
B <sub>12</sub>	0,50
pH	6,80

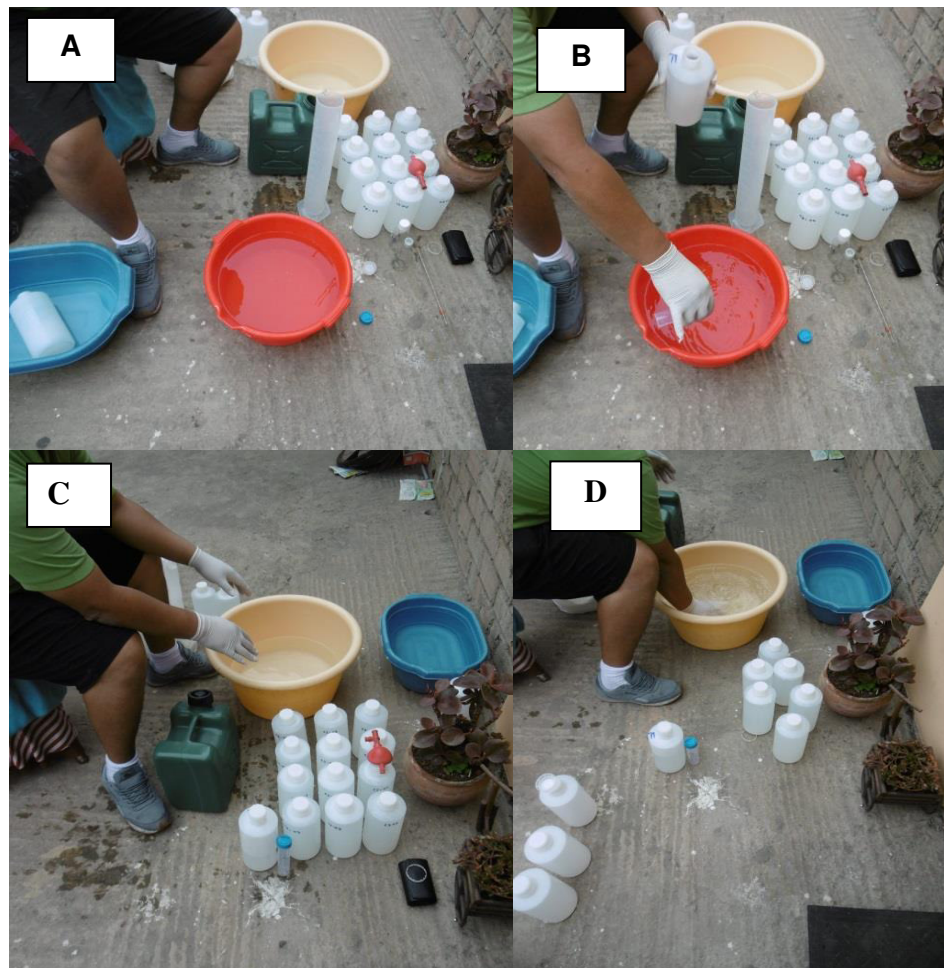
Tabla 6.2. Contenido y composición del Medio Chu # 10 usado en 1 L de agua destilada según Andersen (2005), para el aislamiento de diatomeas se procedió a ajustar el pH a 6.4.

Ingredientes	Cantida usada (mg)
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	40
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	25
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	20
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	25
FeCl <sub>3</sub>	0,8
pH	6,4

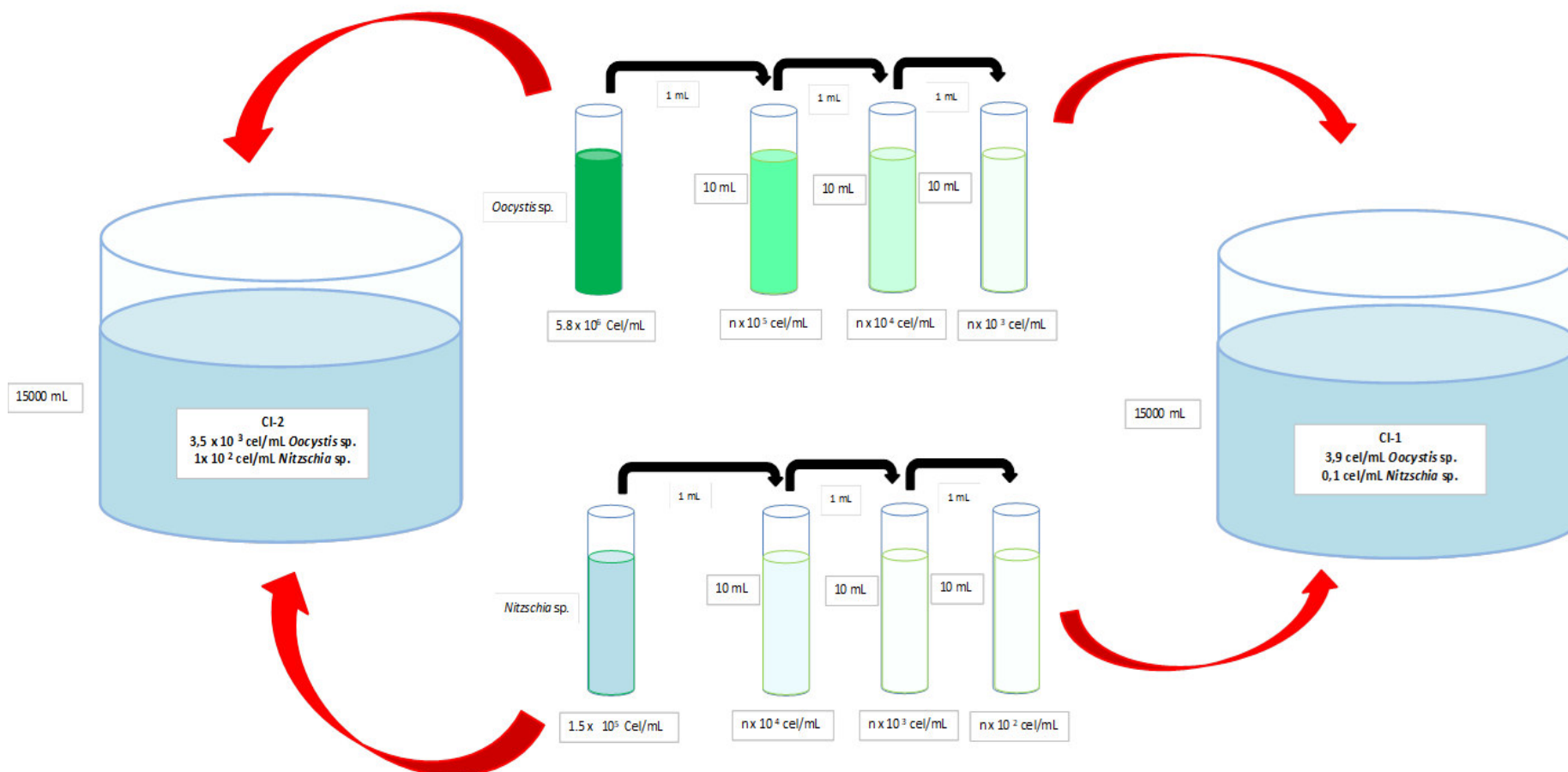
Tabla 6.3. Contenido y composición del medio Carefoot usado en 1 L de agua destilada según Andersen (2005), para el aislamiento de dinoflagelados se procedió a ajustar el pH a 7.5 y a 6.8

Ingredientes	Cantida usada (mg)
$\text{NaNO}_3$	250,00
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	9,70
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	22,70
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4,90
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	16,50
$\text{NaCl}$	16,50
pH	7,50

**Anexo 7. Foto A y B, inoculación con varios organismos para determinar la incertidumbre cualitativa. Foto C y D, muestreo de agua inoculada con *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. mediante toma directa *in vitro***



**Anexo 8. Procedimiento de inoculación para determinar la incertidumbre de muestreo (mínima y máxima concentración) para *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp.**



## Anexo 9. Pasos para el cálculo de ANOVA de una vía

Primero, se escoge el tipo de diseño para realizar la incertidumbre de muestreo, en el presente trabajo se escogió el diseño de la derecha (Diseño de réplica de dos niveles) (Figura 10.1)

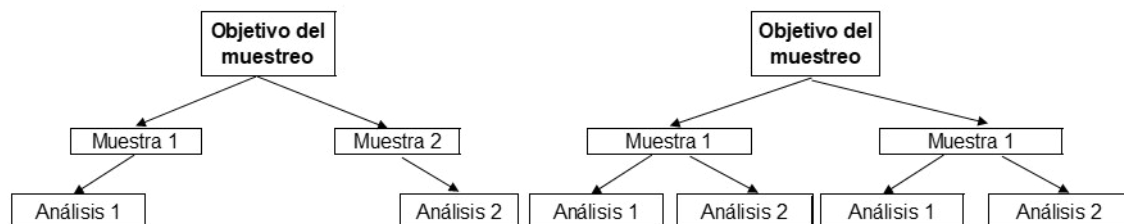


Figura 10.1 Los principios del diseño de réplica con uno (izquierda) y dos (derecha) niveles de divisiones. Fuente: Traducido de Grøn *et al.*, 2007

Segundo, según la tabla A tenemos dos niveles de replicación, muestras sextuplicadas (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) y dos submuestras analizadas de cada uno de las muestras (D1 y D2), asimismo  $X_{ijk}$ , donde  $i=2$  objetivos de muestreo,  $J=6$  muestras que fueron tomadas en cada objetivo de muestreo,  $K=$ dos submuestreos para análisis.

Tercero, se debe asumir que los análisis de cada grupo tienen una distribución normal y que cada grupo tiene la misma distribución.

Cuarto, La varianza de los análisis es estimada basado en la diferencia del valor medio, no en el rango, entonces se calcula el valor medio de los análisis de cada grupo de las dos submuestras de acuerdo a:

$$\bar{X}_{i1} = \frac{X_{i11} + X_{i12}}{2}$$

**Tabla A.** Cálculo usando el ANOVA para el cálculo de la desviación estándar de los análisis de las muestras duplicadas y los análisis duplicados (diseño de réplica de dos divisores) para *Oocystis lacustris*

Muestras sextuplicadas (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para Oocystis (Cel/ml) y analizadas en duplicados ( D1 y D2). Los calculos estan dados como sigue.																																			
X <sub>ijk</sub> i= 2 objetivos de muestreo,j=6 muestras son tomadas, k=dos submuestreos para analisis																																			
M1D1	M1D2	M2D1	M2D2	M3D1	M3D2	M4D1	M4D2	M5D1	M5D2	M6D1	M6D2	M1	M2	M3	M4	M5	M6		M1	M2	M3	M4	M5	M6											
X <sub>i11</sub>	X <sub>i12</sub>	X <sub>i21</sub>	X <sub>i22</sub>	X <sub>i31</sub>	X <sub>i32</sub>	X <sub>i41</sub>	X <sub>i42</sub>	X <sub>i51</sub>	X <sub>i52</sub>	X <sub>i61</sub>	X <sub>i62</sub>	$\bar{X}_{i1}$	$\bar{X}_{i2}$	$\bar{X}_{i3}$	$\bar{X}_{i4}$	$\bar{X}_{i5}$	$\bar{X}_{i6}$		$2 * D_{i1}^2(\bar{X})$	$2 * D_{i2}^2(\bar{X})$	$2 * D_{i3}^2(\bar{X})$	$2 * D_{i4}^2(\bar{X})$	$2 * D_{i5}^2(\bar{X})$	$2 * D_{i6}^2(\bar{X})$											
2,09	0,00	1,87	3,36	1,68	0,00	0,82	1,63	2,26	0,19	1,59	2,39	1,0442	2,613	0,8416	1,22433	1,224	1,990644		2,18067779	1,11473007	1,41641823	0,33310678	2,14554051	0,31701307											
1783,4	1329,3	2253,54	2221,4	1315	1156,6	1440,6	1373,5	2257,72	1757,2	1067,8	1216,4	1556,4	2237,4	1235,7	1407,08	2007	1142,102		103112,993	518,21018	12514,4571	2248,71328	125249,394	11051,519											
Promedio				799,59															Suma de los cuadrados de las diferencias dentro de los grupos						254702,80										
Grados de libertad, $df_{\text{analysis}}$										12										Varianza del analisis $V_{\text{analysis}}$										21225,23					
Desviacion estandar del analisis										145,69										RSD <sub>analysis</sub>										18,22 %					

**Tabla B.** Cálculo de la desviación estándar del muestreo de las muestras duplicadas y análisis duplicados para *Oocystis lacustris*

Muestras sextuplicadas (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) fueron tomadas de dos puntos de muestreo con diferentes concentraciones para Oocystis (Cel/ml) y analizadas en duplicados ( D1 y D2). Los calculos estan dados como sigue.																																			
X <sub>ijk</sub> i= 2 objetivos de muestreo,j=6 muestras son tomadas, k=dos submuestreos para analisis																																			
												Promedios						Promedio	D <sup>2</sup> <sub>i(X)</sub>																
M1D1	M1D2	M2D1	M2D2	M3D1	M3D2	M4D1	M4D2	M5D1	M5D2	M6D1	M6D2	M1	M2	M3	M4	M5	M6																		
X <sub>i11</sub>	X <sub>i12</sub>	X <sub>i21</sub>	X <sub>i22</sub>	X <sub>i31</sub>	X <sub>i32</sub>	X <sub>i41</sub>	X <sub>i42</sub>	X <sub>i51</sub>	X <sub>i52</sub>	X <sub>i61</sub>	X <sub>i62</sub>	X̄ <sub>i1</sub>	X̄ <sub>i2</sub>	X̄ <sub>i3</sub>	X̄ <sub>i4</sub>	X̄ <sub>i5</sub>	X̄ <sub>i6</sub>	X̄ <sub>i</sub>																	
2,09	0,00	1,87	3,36	1,68	0,00	0,82	1,63	2,26	0,19	1,59	2,39	1,0442	2,613	0,8416	1,22433	1,224	1,990644	1,4896603	0,19844117	1,26187172	0,42004488	0,07040092	0,07044063	0,25098464											
1783,4	1329,3	2253,54	2221,4	1315	1156,6	1440,6	1373,5	2257,72	1757,2	1067,8	1216,4	1556,4	2237,4	1235,7	1407,08	2007	1142,102	1597,699	1707,79712	409277,547	131027,802	36336,3629	167914,202	207568,87											
Promedio												799,59						Suma de cuadrados del muestreo				635889,9	Suma de los cuadrados de las diferencias dentro de los grupos								254702,80				
																							Grados de libertad, df <sub>analysis</sub>								12				
df <sub>muestreo</sub>												10						Varianza del muestreo V <sub>muestreo</sub>												21181,87863					
Desviacion estandar del muestreo												145,54						RSD <sub>analysis</sub>												18,20 %					

Para cada uno de las dos muestras las diferencias D entre cada resultado analítico,  $X_{ijk}$ , y el valor medio  $\bar{X}_{i1}$ , de los dos análisis de cada muestra es calculado:

$$|X_{i11} - \bar{X}_{i1}| = |X_{i12} - \bar{X}_{i1}| = D_{i1(\bar{x})}$$

La suma de los cuadrados de las diferencias de cada muestra es calculada como sigue:

$$D_{i1(\bar{x})}^2 + D_{i2(\bar{x})}^2 = 2 * D_{i1(\bar{x})}^2$$

La suma de cuadrados de diferencias dentro de grupos,  $SS_{E-analisis}$ , es calculado por la sumatoria de la suma de los cuadrados de todas las muestras:

$$SS_{E-analisis} = 2 * \sum_{i=1}^{10} [D_{i1(\bar{x})}^2 + D_{i2(\bar{x})}^2]$$

Los grados de libertad,  $df_{analisis}$ , es calculada de:

$$df_{analisis} = i * j * k - i * j$$

Donde (i) es el número de objetivos de muestreos realizados, (j) número de muestras de cada uno de los muestreos objetivos y (k) número de muestras analizadas de cada muestra.

La varianza de análisis,  $V_{analisis}$ , es luego calculado como sigue:

$$V_{analisis} = \frac{SS_{E-analisis}}{df_{analisis}}$$

Y finalmente, la desviación estándar y la desviación estándar relativa de análisis es calculada de:

$$S_{analisis} = \sqrt{V_{analisis}}$$

$$RSD_{analisis} = \frac{S_{analisis}}{\bar{X}} * 100\%$$

Donde  $\bar{X}$  es la media de todos los resultados.

Quinto, ahora, la varianza de la medición puede ser estimado (tabla B). El valor medio de cada objetivo de muestreo, i, (6 muestras-12 análisis) es calculado como sigue:

$$\bar{X}_{i1} = \frac{\bar{X}_{i1} + \bar{X}_{i2}}{2}$$



Tomando en consideración que el valor medio de cada objetivo de muestreo es calculado de dos valores, las diferencias del valor medio de cada objetivo de muestreo y los valores medios de cada muestra son iguales. El cuadrado de las diferencias  $(D_{(i\bar{X})})^2$  entre el valor medio de cada objetivo de muestreo y el valor medio de cada muestra en el objetivo de muestreo es calculado de acuerdo a:

$$(D_{(i\bar{X})})^2 = (\bar{X}_i - \bar{X}_{i1})^2 = (\bar{X}_i - \bar{X}_{i2})^2$$

La suma de los cuadrados del muestreo  $SS_{muestreo}$  es calculado de acuerdo a:

$$\begin{aligned} SS_{muestreo} &= \sum_{i=1}^{10} \left[ \left( \frac{X_{i11} + X_{i12}}{2} - \bar{X}_i \right)^2 + \left( \frac{X_{i11} + X_{i12}}{2} - \bar{X}_i \right)^2 + \left( \frac{X_{i21} + X_{i22}}{2} - \bar{X}_i \right)^2 \right. \\ &\quad \left. + \left( \frac{X_{i21} + X_{i22}}{2} - \bar{X}_i \right)^2 \right] \\ &= \sum_{i=1}^{10} (2 * D_{i(\bar{X})}^2 + 2 * D_{i(\bar{X})}^2) = 4 * \sum_{i=1}^{10} D_{i(\bar{X})}^2 \end{aligned}$$

El grado de libertad es calculado del número de objetivos de muestreos analizados,  $i$ , y el número de muestras analizadas de cada objetivo de muestreo,  $j$ :

$$df_{muestreo} = i * j - i$$

La varianza del muestreo,  $V_{muestreo}$  es calculado de acuerdo a:

$$V_{muestreo} = \frac{\left( \frac{SS_{muestreo}}{df_{muestreo}} - \frac{SS_{analisis}}{df_{analisis}} \right)}{2}$$

La desviación estándar,  $S_{muestreo}$ , y la desviación estándar relativa,  $RSD_{muestreo}$ , del muestreo son calculados:

$$S_{muestreo} = \sqrt{V_{muestreo}}$$

Si  $V_{muestreo} < 0$  luego  $S_{muestreo}$  es convencionalmente fijado a cero.

$$RSD_{muestreo} = \left( \frac{S_{muestreo}}{\bar{X}} \right) * 100\%$$

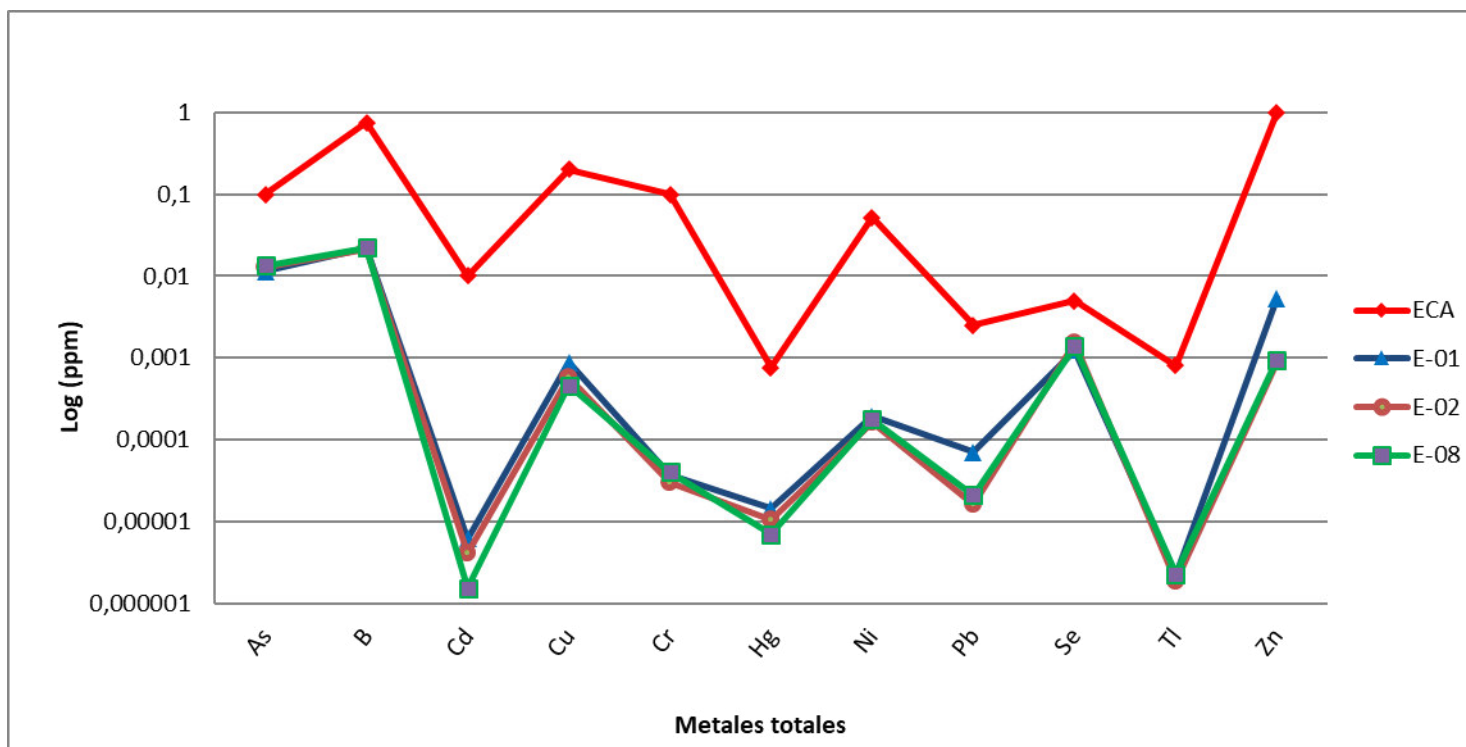
Finalmente, la Incertidumbre de la medida se calcula de la siguiente manera:

$$S_{medida}^2 = S_{muestreo}^2 + S_{analisis}^2$$

**Anexo 10. Metales totales (ppm) por ICP óptico observados en las estaciones E-01, E-02 y E-08 de la laguna La Viuda para el mes de noviembre del 2016.**

Metales Estaciones	7Li (KED)	9Be (KED)	11B (KED)	23Na (KED)	24Mg (KED)	27Al (KED)	28Si (KED)	31P (KED)	39K (KED)	44Ca (KED)	48Ti (KED)	51V (KED)
	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)
E-01	0,001149715	0	0,0220186	0,25926843	1,5439953	0,00880705	1,209200448	0,04179354	0,384099333	25,5998455	0,02906486	0,000354133
E-02	0,001166623	0	0,0210867	0,24479304	1,5217968	0,00116183	1,193607292	0,05385095	0,365894741	25,84330129	0,02902547	0,000314441
E-08	0,00125116	8,5818E-05	0,0222582	0,23612016	1,51177806	0,00079745	1,148223585	0,00859081	0,348672381	22,78022512	0,02703007	0,000262895
Metales Estaciones	52Cr (KED)	55Mn (KED)	56Fe (KED)	58Ni (KED)	59Co (KED)	63Cu (KED)	64Zn (KED)	71Ga (KED)	74Ge (KED)	75As (KED)	82Se (KED)	85Rb (KED)
	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)
E-01	3,67557E-05	0,00074524	0,0036522	0,00019498	8,816E-06	0,00088761	0,005337522	5,1191E-06	2,1779E-05	0,011333706	0,00124792	9,5973E-05
E-02	3,04619E-05	0,00050122	0,0009291	0,00016585	7,0528E-06	0,00058394	0,000890937	6,5817E-06	1,21962E-05	0,013034861	0,00150543	0,000155907
E-08	4,02802E-05	0,00021004	0,0023984	0,00017605	9,6976E-06	0,00046443	0,000942137	2,9252E-06	8,71157E-06	0,013535085	0,00138658	0,000152262
Metales Estaciones	88Sr (KED)	90Zr (KED)	93Nb (KED)	98Mo (KED)	109Ag (KED)	111Cd (KED)	118Sn (KED)	121Sb (KED)	130Te (KED)	133Cs (KED)	138Ba (KED)	139La (KED)
	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)
E-01	0,062468127	1,5202E-05	0,0003583	0,00281108	8,3838E-06	6,2181E-06	1,84763E-05	0,00280492	0,000427723	1,03407E-05	0,00479474	1,7317E-06
E-02	0,060958959	5,6635E-06	0,0003852	0,00223923	1,441E-05	4,1454E-06	1,56535E-05	0,00252096	0,000412571	5,74477E-06	0,00342458	5,65452E-07
E-08	0,062321351	4,7693E-06	0,000163	0,00169503	1,179E-05	1,5545E-06	3,43866E-05	0,00235075	0,000392758	3,8572E-06	0,00401481	3,88747E-07
Metales Estaciones	140Ce (KED)	174Yb (KED)	<sup>175</sup> Lu (KED)	178Hf (KED)	180W (KED)	181Ta (KED)	202Hg (KED)	205Tl (KED)	208Pb (KED)	209Bi (KED)	232Th (KED)	238U (KED)
	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)	Y (ppm)
E-01	5,27564E-06	1,9837E-07	1,883E-08	4,9546E-06	0,00011829	0,0001845	1,45539E-05	2,2712E-06	7,08529E-05	1,30888E-05	2,2814E-06	7,20856E-05
E-02	8,41807E-07	9,8101E-08	7,53E-08	2,7301E-06	6,7375E-05	0,00015333	1,03834E-05	1,8959E-06	1,60734E-05	1,21344E-05	1,4769E-06	7,73775E-05
E-08	4,209E-07	3,1614E-08	3,765E-08	1,1628E-06	2,8366E-05	6,1894E-05	7,06413E-06	2,2909E-06	2,09458E-05	1,26797E-05	1,3088E-06	4,15794E-05

**Anexo 11. Elementos químicos (Metales totales) requeridos por el ECA para la categoría 2. Subcategoría C4 (Extracción y cultivo de peces hidrobiológicos en lagos y lagunas). En la gráfica se muestra en el eje de las abscisas los nombres de los metales y en el eje vertical el log de la concentración de estos metales (ppm). La línea roja es el límite establecido por el ECA para esta categoría, los tres puntos evaluados en noviembre del 2016 cumplen.**



**Anexo 12. Cálculo de la abundancia relativa (Pi) y los Índices de diversidad alfa (Margalef, Shannon-Wiener, Simpson)  
para el fitoplancton de la laguna La Viuda (agosto-2016)**

GÉNERO	Concentración (Cel/mL)			Abundancia relativa (Pi)			Pi <sup>2</sup>			P1*log <sub>2</sub> P1		
	E-01	E-02	E-03	E-01	E-02	E-03	E-01	E-02	E-03	E-01	E-02	E-03
<i>Cymbella</i> sp.	12,81	0,31	0,34	0,17	0,01	0,01	0,03	0,00	0,00	-0,43	-0,06	-0,09
<i>Crucigenia rectangularis</i> (A. Braun) Gay	0,00	0,00	0,68	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00			-0,14
<i>Denticula</i> sp.	4,55	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,24		
<i>Elakatothrix gelatinosa</i> Wille	0,41	0,15	0,68	0,01	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	-0,04	-0,03	-0,14
<i>Fragilaria</i> sp.	14,05	0,46	0,68	0,19	0,01	0,03	0,03	0,00	0,00	-0,45	-0,08	-0,14
<i>Gymnodinium</i> sp.	0,83	7,90	3,92	0,01	0,23	0,16	0,00	0,05	0,03	-0,07	-0,49	-0,42
<i>Navicula</i> sp. 1	7,02	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	-0,32		
<i>Navicula</i> sp. 2	10,74	0,15	0,34	0,14	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00	-0,40	-0,03	-0,09
<i>Nitzschia</i> sp. 1	3,72	0,00	0,51	0,05	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	-0,21		-0,12
<i>Nitzschia</i> sp. 2	2,48	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,16		
<i>Oocystis lacustris</i> Chodat	3,31	7,75	3,58	0,04	0,22	0,15	0,00	0,05	0,02	-0,20	-0,48	-0,41
<i>Oscillatoria limosa</i> (Roth) C.A. Agardh	0,41	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,04		
<i>Peridinium</i> sp.	1,24	0,46	1,88	0,02	0,01	0,08	0,00	0,00	0,01	-0,10	-0,08	-0,28
<i>Sphaerocystis Schroeteri</i> Chodat	11,16	15,19	10,23	0,15	0,44	0,42	0,02	0,19	0,17	-0,41	-0,52	-0,53
<i>Synedra</i> sp.	1,65	0,46	0,00	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,12	-0,08	
<i>Tetraëdron minimum</i> (A. Braun) Hansgirg	0,00	0,00	0,34	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00			-0,09
Otros	1,24	1,86	1,36	0,02	0,05	0,06	0,00	0,00	0,00	-0,10	-0,23	-0,23
<b>Total</b>	<b>75,62</b>	<b>34,71</b>	<b>24,55</b>	<b>1,00</b>	<b>1,00</b>	<b>1,00</b>	<b>0,12</b>	<b>0,30</b>	<b>0,23</b>	<b>-3,30</b>	<b>-2,10</b>	<b>-2,67</b>

### Anexo 13. Concentración (cel/mL) y la abundancia relativa (Pi) del fitoplancton de la laguna La Viuda (noviembre-2016)

GÉNERO	Concentración (Cel/mL)							Abundancia relativa (Pi)						
	E-01	E-02	E-04	E-05	E-06	E-07	E-08	E-01	E-02	E-04	E-05	E-06	E-07	E-08
<i>Achnanthes</i> sp.	2,09	24,24	0,00	0,00	0,00	37,30	1,83	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00
<i>Ankistrodesmus falcatus</i> Corda	2,09	0,00	10,96	0,00	0,00	0,00	1,83	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Ankistrodesmus spiralis</i> (Turner) Lemmerman	8,38	19,05	7,30	3,31	3,46	7,10	7,31	0,01	0,02	0,00	0,01	0,01	0,01	0,02
<i>Cosmarium majae</i> Ström	4,19	3,46	0,00	0,00	0,00	3,55	0,91	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Crucigenia rectangularis</i> (A. Braun) Gay	16,75	0,00	0,00	4,97	15,59	5,33	0,00	0,02	0,00	0,00	0,01	0,03	0,00	0,00
<i>Crucigenia quadrata</i> Morren	12,56	24,24	40,17	21,52	6,06	40,85	11,87	0,02	0,02	0,02	0,03	0,01	0,04	0,03
<i>Cylindrotheca</i> sp.	0,00	0,00	0,00	18,21	0,87	0,00	4,57	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,01
<i>Cymbella</i> sp.	41,88	17,32	10,96	9,93	0,00	31,97	31,05	0,06	0,02	0,01	0,02	0,00	0,03	0,08
<i>Denticula</i> sp.	39,79	39,82	51,12	24,84	0,00	56,83	35,62	0,05	0,04	0,03	0,04	0,00	0,05	0,10
<i>Elakatothrix gelatinosa</i> Wille	2,09	19,05	124,16	62,92	17,32	53,28	4,57	0,00	0,02	0,07	0,10	0,04	0,05	0,01
<i>Epithemia</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Fragilaria</i> sp.	270,15	443,27	80,34	39,74	14,72	317,90	46,57	0,36	0,42	0,05	0,06	0,03	0,28	0,13
<i>Gymnodinium</i> sp.	14,66	5,19	36,52	16,56	2,60	10,66	9,13	0,02	0,00	0,02	0,03	0,01	0,01	0,02
<i>Merismopedia trolleri</i> Bachmann	0,00	0,00	87,64	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Mougeotia</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,91	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Navicula</i> sp. 1	4,19	0,00	7,30	0,00	0,87	0,00	10,05	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03
<i>Navicula</i> sp. 2	39,79	10,39	0,00	1,66	1,73	10,66	17,35	0,05	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,05
<i>Navicula</i> sp. 3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Nitzschia</i> sp. 1	31,41	36,36	69,38	109,28	25,11	19,54	7,31	0,04	0,03	0,04	0,17	0,06	0,02	0,02
<i>Nitzschia</i> sp. 2	46,07	6,93	3,65	0,00	5,20	0,00	2,74	0,06	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01
<i>Oocystis lacustris</i> Chodat	198,94	339,38	832,58	264,92	316,94	491,95	132,42	0,26	0,32	0,48	0,41	0,69	0,43	0,36
<i>Pediastrum boryanum</i> (Turp.) Meneghini	0,00	0,00	3,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Peridinium</i> sp.	6,28	12,12	83,99	34,77	4,33	31,97	10,96	0,01	0,01	0,05	0,05	0,01	0,03	0,03
<i>Scenedesmus</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,91	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Sphaerocystis Schroeteri</i> Chodat	0,00	6,93	62,08	16,56	31,17	0,00	7,31	0,00	0,01	0,04	0,03	0,07	0,00	0,02
<i>Stauroneis</i> sp. 1	0,00	0,00	113,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Stauroneis</i> sp. 3	0,00	0,00	3,65	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Stauroneis</i> sp. 4	0,00	0,00	58,43	0,00	0,00	5,33	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Synedra</i> sp.	10,47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,74	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
<i>Tetraedron minimum</i> (A. Braun) Hansgirg	4,19	22,51	29,21	21,52	9,53	12,43	20,09	0,01	0,02	0,02	0,03	0,02	0,01	0,05
Otros	0,00	15,58	10,96	0,00	0,87	5,33	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Total</b>	755,99	1045,84	1727,25	650,70	456,36	1141,97	368,02	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

**Anexo 14. Hoja de cálculo de  $P_i^2$ ,  $P_1 \cdot \log_2 P_1$  para realizar los cálculos de los índices de diversidad alfa del fitoplancton de la laguna La Viuda (noviembre-2016)**

GÉNERO	$P_i^2$							$P_1 \cdot \log_2 P_1$						
	E-01	E-02	E-04	E-05	E-06	E-07	E-08	E-01	E-02	E-04	E-05	E-06	E-07	E-08
<i>Achnanthidium</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,02	-0,13				-0,16	-0,04
<i>Ankistrodesmus falcatus</i> Corda	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,02		-0,05				-0,04
<i>Ankistrodesmus spiralis</i> (Turner) Lemmermann	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,07	-0,11	-0,03	-0,04	-0,05	-0,05	-0,11
<i>Cosmarium majae</i> Ström	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,04	-0,03				-0,03	-0,02
<i>Crucigenia rectangularis</i> (A. Braun) Gay	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,12			-0,05	-0,17	-0,04	
<i>Crucigenia quadrata</i> Morren	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,10	-0,13	-0,13	-0,16	-0,08	-0,17	-0,16
<i>Cylindrotheca</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00				-0,14	-0,02		-0,08
<i>Cymbella</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	-0,23	-0,10	-0,05	-0,09		-0,14	-0,30
<i>Denticula</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	-0,22	-0,18	-0,15	-0,18		-0,22	-0,33
<i>Elakatothrix gelatinosa</i> Wille	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	-0,02	-0,11	-0,27	-0,33	-0,18	-0,21	-0,08
<i>Epithemia</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00							
<i>Fragilaria</i> sp.	0,13	0,18	0,00	0,00	0,00	0,08	0,02	-0,53	-0,52	-0,21	-0,25	-0,16	-0,51	-0,38
<i>Gymnodinium</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,11	-0,04	-0,12	-0,13	-0,04	-0,06	-0,13
<i>Merismopedia trolleri</i> Bachmann	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			-0,22				
<i>Mougeotia</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00							-0,02
<i>Navicula</i> sp. 1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,04		-0,03		-0,02		-0,14
<i>Navicula</i> sp. 2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,22	-0,07		-0,02	-0,03	-0,06	-0,21
<i>Navicula</i> sp. 3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00							
<i>Nitzschia</i> sp. 1	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	-0,19	-0,17	-0,19	-0,43	-0,23	-0,10	-0,11
<i>Nitzschia</i> sp. 2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,25	-0,05	-0,02		-0,07		-0,05
<i>Oocystis lacustris</i> Chodat	0,07	0,11	0,23	0,17	0,48	0,19	0,13	-0,51	-0,53	-0,51	-0,53	-0,37	-0,52	-0,53
<i>Pediastrum boryanum</i> (Turp.) Meneghini	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			-0,02				
<i>Peridinium</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,06	-0,07	-0,21	-0,23	-0,06	-0,14	-0,15
<i>Scenedesmus</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00							-0,02
<i>Sphaerocystis Schroeteri</i> Chodat	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		-0,05	-0,17	-0,13	-0,26		-0,11
<i>Staurisira</i> sp. 1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			-0,26				
<i>Staurisira</i> sp. 3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			-0,02				
<i>Staurisira</i> sp. 4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			-0,17			-0,04	
<i>Synedra</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,09						-0,05
<i>Tetraëdron minimum</i> (A. Braun) Hansgirg	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,04	-0,12	-0,10	-0,16	-0,12	-0,07	-0,23
Otros	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		-0,09	-0,05		-0,02	-0,04	
<b>Total</b>	0,21	0,29	0,26	0,22	0,49	0,27	0,17	-2,89	-2,47	-2,95	-2,88	-1,88	-2,56	-3,30

**Anexo 15. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 1- 1era evaluación práctica de la Identificación de Dinoflagelados usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa estuvo entre 0.62-**

Cálculo de probabilidades																																	
Evaluación del analista 1		1era Evaluación para Dinoflagelados																															
		Repeticiones																															
Probabilidades		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30		
(4'')3'2'1'') Probabilidad de identificar Chlorophyta		0,53	0,47	0,50	0,50	0,47	0,50	0,50	0,50	0,50	0,53	0,43	0,50	0,43	0,50	0,50	0,47	0,50	0,50	0,47	0,47	0,50	0,50	0,53	0,50	0,47	0,50	0,47	0,50	0,47	0,53		
(1') Probabilidad de identificar Cynophyta		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
(2'1') Probabilidad de identificar Euglenophyta		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
(2'')1'') Probabilidad de identificar Phaeophyta		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
(5'')2'1'') Probabilidad de identificar Chrysophyta		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
(6'')5'')2'1'') Probabilidad de identificar Pyrrophyta		0,47	0,53	0,50	0,50	0,53	0,50	0,50	0,50	0,50	0,47	0,57	0,50	0,57	0,50	0,50	0,53	0,50	0,50	0,53	0,53	0,50	0,50	0,47	0,50	0,53	0,50	0,53	0,50	0,53	0,47		
(7'')6'')5'')2'1'') Probabilidad de identificar Rhodophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
(7'')6'')5'')2'')1'') Probabilidad de identificar Chryptophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Probabilidad de no identificar Pyrrophyta		0,53	0,47	0,50	0,50	0,47	0,50	0,50	0,50	0,50	0,53	0,43	0,50	0,43	0,50	0,50	0,47	0,50	0,50	0,47	0,47	0,50	0,50	0,53	0,50	0,47	0,50	0,47	0,50	0,47	0,53		
P(7'')6'')5'')2'1'')=Probabilidad de identificar Dinoflagelado habiendo identificado el arco 3'')2'1'')		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00		
Cálculo de la incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes																																	
Probabilidad de haber identificado a Dinoflagelados dado que Dinoflagelados estaba presente		P(I+ D+)	0,62	0,71	0,67	0,67	0,71	0,67	0,67	0,67	0,62	0,75	0,67	0,75	0,67	0,67	0,71	0,67	0,67	0,71	0,71	0,67	0,67	0,62	0,67	0,71	0,67	0,71	0,67	0,71	0,62		
Probabilidad de no haber identificado a Dinoflagelados dado que Dinoflagelados estaba presente		P(I- D+)	0,38	0,29	0,33	0,33	0,29	0,33	0,33	0,33	0,38	0,25	0,33	0,25	0,33	0,33	0,29	0,33	0,33	0,29	0,29	0,33	0,33	0,38	0,33	0,29	0,33	0,29	0,33	0,29	0,38		

**Anexo 16. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 1- 2da evaluación práctica de la Identificación de Dinoflagelados usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa estuvo entre 0.98-**

Cálculo de probabilidades																															
Evaluación del analista 1		2da Evaluación para Dinoflagelados																													
		Repeticiones																													
Probabilidades		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
(4'')3'2'1'') Probabilidad de identificar Chlorophyta		0,10	0,07	-	-	-	-	0,03	0,03	-	-	-	0,10	0,03	-	-	-	0,03	-	-	0,10	-	-	0,03	-	0,10	0,03	0,10	0,03	-	0,03
(1') Probabilidad de identificar Cynophyta		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
(2'1') Probabilidad de identificar Euglenophyta		0,03	0,03	-	-	-	-	0,00	0,00	-	-	-	0,03	0,00	-	-	-	0,00	-	-	0,03	-	-	0,00	-	0,03	0,00	0,03	0,00	-	0,00
(2''1'') Probabilidad de identificar Phaeophyta		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
(5''2'1'') Probabilidad de identificar Chrysophyta		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
(6''5''2'1'') Probabilidad de identificar Pyrrophyta		0,87	0,90	1,00	1,00	1,00	1,00	0,97	0,97	1,00	1,00	1,00	0,87	0,97	1,00	1,00	1,00	0,97	1,00	1,00	0,87	1,00	1,00	0,97	1,00	0,87	0,97	0,87	0,97	1,00	0,97
(7''6''5''2'1'') Probabilidad de identificar Rhodophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(7''6''5''2'1'') Probabilidad de identificar Chryptophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Probabilidad de no identificar Pyrrophyta		0,13	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,03	0,00	0,00	0,00	0,13	0,03	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,13	0,03	0,03	0,00	0,03
P(7''6''5''2'1'')=Probabilidad de identificar Dinoflagelado habiendo identificado el arco 3'',2',1''		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Cálculo de la incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes																															
Probabilidad de haber identificado a Dinoflagelados dado que Dinoflagelados estaba presente	P(I+ D+)	0,98	0,99	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,98	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,98	1,00	1,00	1,00	1,00	0,98	1,00	0,98	1,00	1,00	1,00
Probabilidad de no haber identificado a Dinoflagelados dado que Dinoflagelados estaba	P(I- D+)	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00



**Anexo 17. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 1- 3era evaluación práctica de la Identificación de Dinoflagelados usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa fue de 1.**

Cálculo de probabilidades																																	
Evaluación del analista 1		3era Evaluación para Dinoflagelados																															
		Repeticiones																															
Probabilidades		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30		
3'2'1'') Probabilidad de identificar Chlorophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Probabilidad de identificar Cynophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
') Probabilidad de identificar Euglenophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1'') Probabilidad de identificar Phaeophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2'1'') Probabilidad de identificar Chrysophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
5'2'1'') Probabilidad de identificar Pyrrophyta		1	1,0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
6'5'2'1'') Probabilidad de identificar Rhodophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
6'5'2'1'') Probabilidad de identificar Cryptophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
abilidad de no identificar Pyrrophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
/6'5'2'1'')=Probabilidad de identificar Dinoflagelado tendo identificado el arco 3'',2'',1''		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
Culo de la incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes																																	
abilidad de haber identificado a pflagelados dado que Dinoflagelados estaba	P(I+/D+)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00		
abilidad de no haber identificado a pflagelados dado que Dinoflagelados estaba	P(I-/D+)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		

**Anexo 18. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 1- 1ra evaluación práctica de la Identificación de Diatomeas usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa estuvo entre 0.95-0.97.**

Cálculo de probabilidades																																
Evaluación del analista 1		1era Evaluación para Diatomeas																														
		Repeticiones																														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
Probabilidades																																
(4''-3'2'1'') Probabilidad de identificar Chlorophyta		0.167	0.2	0.2	0.17	0.2	0.17	0.2	0.2	0.17	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.17	0.2	0.2	0.17	0.2	0.2	
(1'') Probabilidad de identificar Cynophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
(2'1'') Probabilidad de identificar Euglenophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
(2'1'') Probabilidad de identificar Phaeophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
(5''2'1'') Probabilidad de identificar Chrysophyta		0.833	0.8	0.8	0.83	0.8	0.83	0.8	0.8	0.83	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.83	0.8	0.8	0.83	0.8	0.8	
(6''5'2'1'') Probabilidad de identificar Pyrrophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(7''6'5'2'1'') Probabilidad de identificar Rhodophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(7''6'5'2'1'') Probabilidad de identificar Chryptophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Probabilidad de no identificar Chrysophyta		0.167	0.2	0.2	0.17	0.2	0.17	0.2	0.2	0.17	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.17	0.2	0.2	0.17	0.2	0.2	
P(6'5'2'1'')=Probabilidad de identificar Chrysophyta habiendo identificado el arco 5'2'1''		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Cálculo de la incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes																																
Probabilidad de haber identificado a Diatomeas dada que Diatomeas estaba presente		P(I+/D+)	0.97	0.95	0.97	0.97	0.97	0.97	0.95	0.95	0.97	0.95	0.97	0.95	0.95	0.97	0.95	0.97	0.95	0.95	0.95	0.97	0.95	0.95	0.97	0.95	0.95	0.97	0.95	0.95		
Probabilidad de no haber identificado a Diatomeas dada que Diatomeas estaba presente		P(I-/D+)	0.03	0.05	0.03	0.03	0.03	0.03	0.05	0.05	0.03	0.05	0.03	0.05	0.05	0.03	0.05	0.03	0.05	0.05	0.05	0.03	0.05	0.05	0.03	0.05	0.05	0.03	0.05	0.05		



**Anexo 19. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 1- 2da evaluación práctica de la Identificación de Diatomeas usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa fue de 1.**

Cálculo de probabilidades																																
Evaluación del analista 1		2da Evaluación para Diatomeas																														
		Repeticiones																														
Probabilidades		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
(4'',3'2'1'') Probabilidad de identificar Chlorophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(1'') Probabilidad de identificar Cynophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
(2'1'') Probabilidad de identificar Euglenophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(2''1'') Probabilidad de identificar Phaeophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
(5''2''1'') Probabilidad de identificar Chrysophyta		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
(6''5''2''1'') Probabilidad de identificar Pyrrophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(7''6''5''2''1'') Probabilidad de identificar Rhodophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(7''6''5''2''1'') Probabilidad de identificar Chryptophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Probabilidad de no identificar Chrysophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P(6''5''2''1'')=Probabilidad de identificar Chrysophyta habiendo identificado el arco 5''2''1''		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Cálculo de la incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes																																
Probabilidad de haber identificado a Diatomea dado que Diatomea estaba presente	P(I+/D+)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	
Probabilidad de no haber identificado a Diatomea dado que Diatomea estaba presente	P(I-/D+)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

**Anexo 20. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 3- 1ra evaluación práctica de la Identificación de Dinoflagelados usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa fue de 1.**

Cálculo de probabilidades																																
Evaluación del analista 3		1era Evaluación para Dinoflagelados																														
		Repeticiones																														
Probabilidades		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
(4''3'2'1'') Probabilidad de identificar Chlorophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(1'') Probabilidad de identificar Cynophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
(2'1'') Probabilidad de identificar Euglenophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(2''1'') Probabilidad de identificar Phaeophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
(5''2''1'') Probabilidad de identificar Chrysophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
(6''5''2''1'') Probabilidad de identificar Pyrrophyta		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
(7''6''5''2''1'') Probabilidad de identificar Rhodophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(7''6''5''2''1'') Probabilidad de identificar Chryptophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Probabilidad de no identificar Pyrrophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
P(7''/6''5''2''1'')=Probabilidad de identificar Dinoflagelado habiendo identificado el arco 3'',2'',1''		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Cálculo de la incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes																																
Probabilidad de haber identificado a Dinoflagelados dado que Dinoflagelados estaba presente	P(I+ D+)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	
Probabilidad de no haber identificado a Dinoflagelados dado que Dinoflagelados estaba presente	P(I- D+)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

**Anexo 21. Resultados de la Incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes para el Analista 3- 2da evaluación práctica de la Identificación de Dinoflagelados usando la clave dicotómica, la incertidumbre cualitativa fue de 1.**

Cálculo de probabilidades																															
Evaluación del analista 3		2da Evaluación para Dinoflagelados																													
		Repeticiones																													
Probabilidades		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
(4'',3'2'1'') Probabilidad de identificar Chlorophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(1'') Probabilidad de identificar Cynophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(2'1') Probabilidad de identificar Euglenophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(2''1'') Probabilidad de identificar Phaeophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(5''2'1'') Probabilidad de identificar Chrysophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(6''5'2'1'') Probabilidad de identificar Pyrrophyta		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
(7''6''5'2'1'') Probabilidad de identificar Rhodophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(7''6''5'2'1'') Probabilidad de identificar Chryptophyta		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Probabilidad de no identificar Pyrrophyta		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P(7''6''5'2'1'')=Probabilidad de identificar Dinoflagelado habiendo identificado el arco 3'',2',1''		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Cálculo de la incertidumbre cualitativa usando el Teorema de Bayes																															
Probabilidad de haber identificado a Dinoflagelados dado que Dinoflagelados estaba presente	P(I+D+)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	
Probabilidad de no haber identificado a Dinoflagelados dado que Dinoflagelados estaba presente	P(I+D-)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

**Anexo 22. Prueba de normalidad para los recuentos obtenidos de las muestras inoculadas CI-1 y CI-2 para *Oocystis lacustris*, el valor de significación (Sig.) es mayor a 0.05 por lo tanto los datos son normales.**

**Pruebas de normalidad**

Puntos_Muestreo		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Concentracion	CI-1	,205	12	,176	,931	12	,389
	CI-2	,222	12	,106	,865	12	,057

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Anexo 23. Prueba de normalidad para los recuentos obtenidos de las muestras inoculadas CI-1 y CI-2 para *Nitzschia* sp. el valor de significación (Sig.) es mayor a 0.05 por lo tanto los datos son normales.**

**Pruebas de normalidad**

Puntos_Muestreo		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Concentracion	CI-1	,176	12	,200 <sup>*</sup>	,939	12	,491
	CI-2	,209	12	,154	,872	12	,069

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Anexo 24. Prueba de normalidad para los recuentos obtenidos de las muestras obtenidos de campo P1 y P2 para *Oocystis lacustris*, el valor de significación (Sig.) es mayor a 0.05 por lo tanto los datos son normales.**

**Pruebas de normalidad**

Puntos_muestreo		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Concentración	P1	,227	8	,200 <sup>*</sup>	,910	8	,357
	P2	,210	8	,200 <sup>*</sup>	,954	8	,749

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Anexo 25. Prueba de normalidad para los recuentos obtenidos de las muestras obtenidos de campo P1 y P2 para *Nitzschia* sp., el valor de significación (Sig.) es menor a 0.05 por lo tanto los datos no son normales.**

**Pruebas de normalidad**

Puntos_muestreo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Concentración P1	,513	8	,000	,418	8	,000
P2	,445	8	,000	,605	8	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Anexo 26. Prueba de normalidad para la distribución del conteo por campo microscópico para *Nitzschia* sp. por cada lámina CI-2 (máxima concentración), el valor de significación (Sig.) es menor a 0.05 por lo tanto los datos no son normales**

**Pruebas de normalidad**

LAMINAS	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Conteo CI-2-1	,537	201	,000	,120	201	,000
CI-2-1duplicado	,538	221	,000	,131	221	,000
CI-2-2	,540	180	,000	,172	180	,000
CI-2-2duplicado	,537	175	,000	,229	175	,000
CI-2-3	,529	220	,000	,069	220	,000
CI-2-3duplicado	,536	270	,000	,114	270	,000
CI-2-4	,539	237	,000	,142	237	,000
CI-2-4duplicado	,533	232	,000	,088	232	,000
CI-2-5	,540	155	,000	,168	155	,000
CI-2-5duplicado	,535	189	,000	,103	189	,000
CI-2-6	,540	249	,000	,167	249	,000
CI-2-6duplicado	,534	206	,000	,096	206	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Anexo 27. Prueba de normalidad para la distribución del conteo por campo microscópico para *Nitzschia* sp. por cada lámina CI-1 (mínima concentración), el valor de significación (Sig.) es menor a 0.05 por lo tanto los datos no son normales**

**Pruebas de normalidad<sup>b,c</sup>**

Láminas		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Franja	CI-1-1	,522	41	,000	,384	41	,000
	CI-1-1duplicado	,520	32	,000	,391	32	,000
	CI-1-2	,527	38	,000	,355	38	,000
	CI-1-2duplicado	,539	38	,000	,237	38	,000
	CI-1-3	,539	35	,000	,250	35	,000
	CI-1-3duplicado	,539	29	,000	,184	29	,000
	CI-1-4duplicado	,539	38	,000	,237	38	,000
	CI-1-5	,524	52	,000	,341	52	,000
	CI-1-5duplicado	,527	38	,000	,355	38	,000
	CI-1-6	,523	34	,000	,378	34	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

b. Franja es constante cuando Láminas = CI-1-4. Se ha omitido.

c. Franja es constante cuando Láminas = CI-1-6duplicado. Se ha omitido.

**Anexo 28. Prueba de normalidad para la distribución del conteo por campo microscópico para *Oocystis lacustris* por cada lámina CI-2 (máxima concentración), el valor de significación (Sig.) es menor a 0.05 por lo tanto los datos no son normales**

**Pruebas de normalidad**

Láminas		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Conteo	CI-2-1	,222	193	,000	,770	193	,000
	CI-2-1duplicado	,221	221	,000	,771	221	,000
	CI-1-2	,240	180	,000	,724	180	,000
	CI-1-2duplicado	,179	175	,000	,841	175	,000
	CI-1-3	,273	220	,000	,771	220	,000
	CI-1-3duplicado	,321	270	,000	,662	270	,000
	CI-1-4	,243	237	,000	,699	237	,000
	CI-1-4duplicado	,233	232	,000	,734	232	,000
	CI-1-5	,174	155	,000	,847	155	,000
	CI-1-5duplicado	,265	189	,000	,597	189	,000
	CI-1-6	,296	249	,000	,581	249	,000
	CI-1-6duplicado	,258	206	,000	,703	206	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

**Anexo 29. Prueba de normalidad para la distribución del conteo por campo microscópico para *Oocystis lacustris* por cada lámina CI-1 (mínima concentración), el valor de significación (Sig.) es menor a 0.05 por lo tanto los datos no son normales**

**Pruebas de normalidad<sup>b,c</sup>**

Láminas		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Franjas	CI-1	,503	41	,000	,368	41	,000
	CI-2	,462	38	,000	,336	38	,000
	CI-2duplicado	,467	38	,000	,371	38	,000
	CI-3	,521	35	,000	,302	35	,000
	CI-4	,539	25	,000	,203	25	,000
	CI-1-4duplicado	,524	38	,000	,286	38	,000
	CI-1-5	,494	52	,000	,379	52	,000
	CI-1-5duplicado	,538	38	,000	,152	38	,000
	CI-1-6	,538	34	,000	,255	34	,000
	CI-1-6duplicado	,528	30	,000	,347	30	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

b. Franjas es constante cuando Láminas = CI-1-1duplicado. Se ha omitido.

c. Franjas es constante cuando Láminas = CI-3duplicado. Se ha omitido.

**Anexo 30. Cálculo del RSD para la máxima concentración de *Oocystis lacustris* en base a 12 láminas (CI-2-1 a CI-2-6), se realizó el conteo hasta llegar a una suma de 400 células por lámina (campos contados entre 155-271)**

Láminas	CI-2-1	CI-2-1	CI-2-2	CI-2-2	CI-2-3	CI-2-3	CI-2-4	CI-2-4	CI-2-5	CI-2-5	CI-2-6	CI-2-6
Suma	471,00	402,00	528,00	506,00	402,00	458,00	435,00	406,00	471,00	447,00	400,00	464,00
Promedio	2,44	1,82	2,93	2,89	1,83	1,70	1,84	1,75	3,04	2,37	1,61	2,25
Desviación estandar	3,19	2,36	4,16	3,14	2,44	2,85	2,64	2,40	3,24	3,76	3,00	3,47
RSD	1,31	1,30	1,42	1,09	1,33	1,68	1,44	1,37	1,07	1,59	1,87	1,54
RSD	1,42											
RSD <sup>2</sup>	2,01											

**Anexo 31. Cálculo del RSD para la mínima concentración de *Oocystis lacustris* en base a 12 láminas (CI-1-1 a CI-1-6), se realizó el conteo por lámina (franjas contadas entre 26-52)**

Láminas	CI-1-1	CI-1-1	CI-1-2	CI-1-2	CI-1-3	CI-1-3	CI-1-4	CI-1-4	CI-1-5	CI-1-5	CI-1-6	CI-1-6
Suma	10,00	0,00	10,00	18,00	8,00	0,00	4,00	8,00	12,00	1,00	8,00	12,00
Promedio	0,24	0,00	0,26	0,47	0,23	0,00	0,16	0,21	0,23	0,03	0,24	0,40
Desviación estandar	0,77	0,00	0,86	1,47	0,84	0,00	0,80	0,81	0,70	0,16	0,96	1,22
RSD	3,15	0,00	3,27	3,10	3,69	0,00	5,00	3,85	3,05	6,16	4,06	3,05
RSD	3,20											
RSD <sup>2</sup>	10,23											



**Anexo 32. Cálculo del RSD para la máxima concentración de *Nitzschia* sp. en base a doce láminas (CI-2-1 a CI-2-6), se realizó el conteo por lamina (campos contados entre 156-270)**

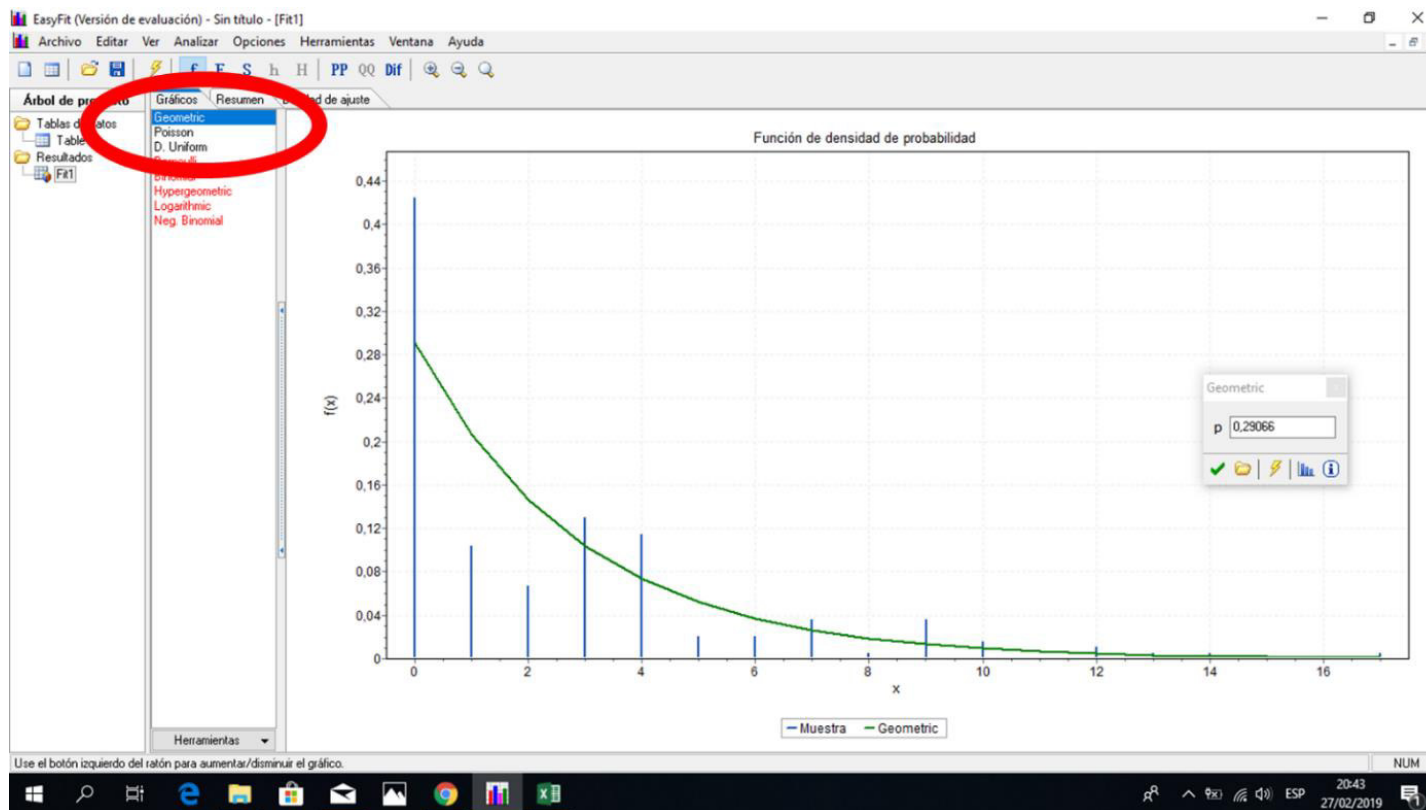
Láminas	CI-2-1	CI-2-1	CI-2-2	CI-2-2	CI-2-3	CI-2-3	CI-2-4	CI-2-4	CI-2-5	CI-2-5	CI-2-6	CI-2-6
Suma	4,00	5,00	6,00	10,00	2,00	5,00	6,00	3,00	5,00	3,00	8,00	3,00
Promedio	0,02	0,02	0,03	0,06	0,01	0,02	0,03	0,01	0,03	0,02	0,03	0,01
Desviación estandar	0,14	0,15	0,18	0,26	0,10	0,14	0,16	0,11	0,18	0,13	0,18	0,12
RSD	6,89	6,59	5,40	4,48	10,46	7,29	6,22	8,76	5,49	7,89	5,50	8,25
RSD	6,94											
RSD <sup>2</sup>	48,11											

**Anexo 33. Cálculo del RSD para la mínima concentración de *Nitzschia* sp. en base a doce láminas (CI-1-1 a CI-1-6), se realizó el conteo por lamina (franjas contadas entre 26 -52)**

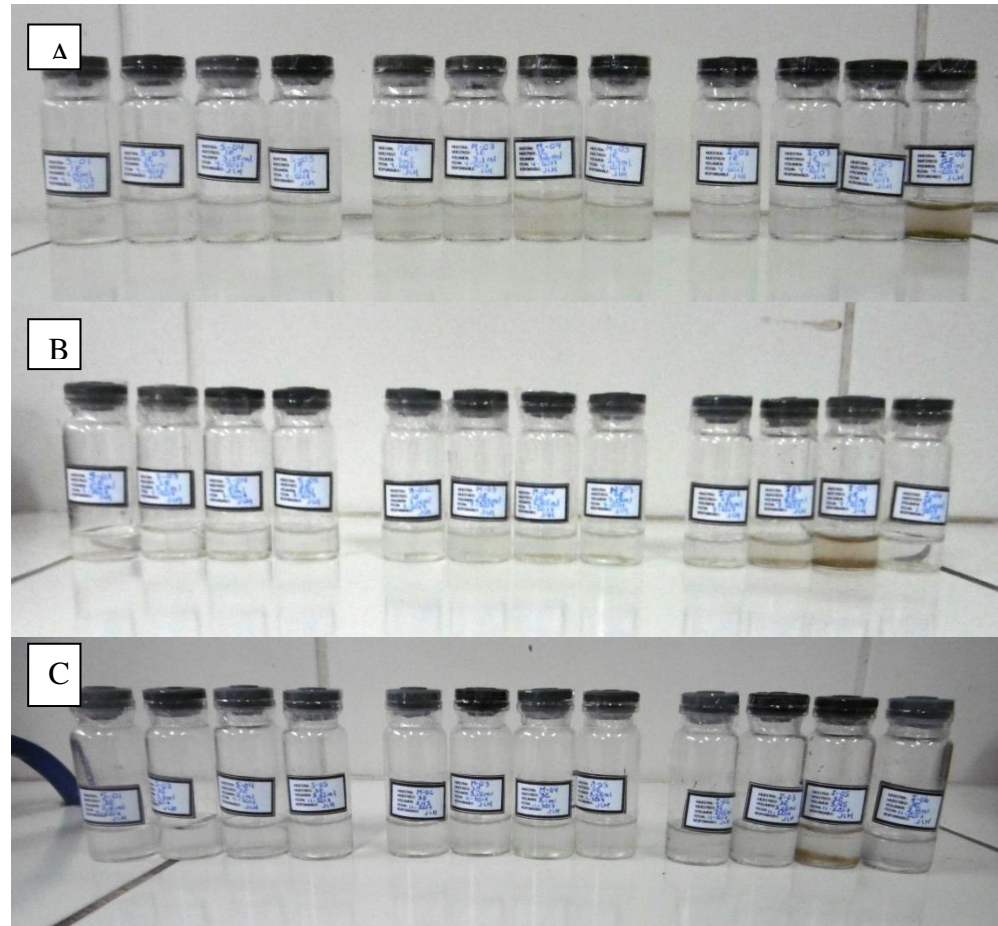
Láminas	CI-1-1	CI-1-1	CI-1-2	CI-1-2	CI-1-3	CI-1-3	CI-1-4	CI-1-4	CI-1-5	CI-1-5	CI-1-6	CI-1-6
Suma	5,00	4,00	4,00	2,00	2,00	1,00	0,00	2,00	6,00	4,00	4,00	0,00
Promedio	0,12	0,13	0,11	0,05	0,06	0,03	0,00	0,05	0,12	0,11	0,12	0,00
Desviación estandar	0,33	0,34	0,31	0,22	0,24	0,19	0,00	0,23	0,38	0,31	0,33	0,00
RSD	2,72	2,69	2,95	4,25	4,12	5,39	0,00	4,30	3,28	2,95	2,78	0,00
RSD	2,95											
RSD <sup>2</sup>	8,72											



Anexo 34. Modelo de distribución de frecuencia para la máxima concentración de *Oocystis lacustris* obtenido con el programa EasyFit 5.6, el cual coloca en primer lugar al tipo de distribución geométrica y en segundo lugar a la distribución de Poisson (Circulo en rojo).



**Anexo 35. Muestras estacionales del fitoplancton de la Laguna La Viuda obtenidos por el método de concentración: A) abril-2017, B) julio-2017, C) noviembre-2017**



**Anexo 36. Índices biológicos de diversidad alfa para las doce estaciones de muestreo (abril -2017) donde se incorporan 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbres de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. donde LI es el límite inferior y LS es el Límite superior para las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).**

Abril 2017, LI - 3												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	15,00	19,00	15,00	13,00	13,00	19,00	14,00	15,00	15,00	13,00	15,00	15,00
Índice de Riqueza de Margalef	2,37	2,83	2,12	1,64	2,00	2,80	1,99	1,88	2,21	1,70	2,07	2,06
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,45	2,75	1,93	1,78	2,06	2,23	1,76	2,68	2,17	2,23	2,19	1,69
Índice de Dominancia de simpson	0,30	0,30	0,48	0,48	0,39	0,36	0,50	0,26	0,40	0,38	0,39	0,53
Índice recíproco Simpson	3,32	3,36	2,10	2,08	2,56	2,81	1,99	3,84	2,53	2,63	2,54	1,87
Índice de Diversidad de Simpson	0,70	0,70	0,52	0,52	0,61	0,64	0,50	0,74	0,60	0,62	0,61	0,47
Índice de Pielou	0,63	0,65	0,49	0,48	0,56	0,52	0,46	0,69	0,56	0,60	0,56	0,43
Abril 2017, LS - 3												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	15,00	19,00	15,00	13,00	13,00	19,00	14,00	15,00	15,00	13,00	15,00	15,00
Índice de Riqueza de Margalef	2,35	2,80	2,10	1,64	1,98	2,78	1,96	1,86	2,19	1,70	2,06	2,06
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,67	2,97	2,17	1,85	2,30	2,44	2,06	2,92	2,33	2,23	2,36	1,83
Índice de Dominancia de simpson	0,27	0,27	0,42	0,47	0,35	0,32	0,43	0,23	0,37	0,38	0,36	0,51
Índice recíproco Simpson	3,71	3,76	2,36	2,13	2,87	3,08	2,32	4,39	2,70	2,63	2,74	1,96
Índice de Diversidad de Simpson	0,73	0,73	0,58	0,53	0,65	0,68	0,57	0,77	0,63	0,62	0,64	0,49
Índice de Pielou	0,68	0,70	0,55	0,50	0,62	0,57	0,54	0,75	0,60	0,60	0,61	0,47
Abril 2017, LI - 4												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	15,00	19,00	15,00	13,00	13,00	19,00	14,00	15,00	15,00	13,00	15,00	15,00
Índice de Riqueza de Margalef	2,37	2,83	2,12	1,64	2,00	2,80	1,99	1,88	2,21	1,70	2,07	2,06
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,45	2,75	1,93	1,78	2,06	2,23	1,76	2,68	2,17	2,23	2,19	1,69
Índice de Dominancia de simpson	0,30	0,30	0,48	0,48	0,39	0,36	0,50	0,26	0,40	0,38	0,39	0,53
Índice recíproco Simpson	3,32	3,36	2,10	2,08	2,56	2,81	1,99	3,84	2,53	2,63	2,54	1,87
Índice de Diversidad de Simpson	0,70	0,70	0,52	0,52	0,61	0,64	0,50	0,74	0,60	0,62	0,61	0,47
Índice de Pielou	0,63	0,65	0,49	0,48	0,56	0,52	0,46	0,69	0,56	0,60	0,56	0,43
Abril 2017, LS - 4												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	15,00	19,00	15,00	13,00	13,00	19,00	14,00	15,00	15,00	13,00	15,00	15,00
Índice de Riqueza de Margalef	2,31	2,80	2,10	1,64	1,98	2,78	1,96	1,86	2,19	1,70	2,06	2,05
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,78	2,99	2,18	1,87	2,33	2,47	2,09	2,95	2,34	2,23	2,38	1,86
Índice de Dominancia de simpson	0,24	0,26	0,42	0,47	0,34	0,32	0,43	0,22	0,37	0,38	0,36	0,50
Índice recíproco Simpson	4,23	3,84	2,38	2,15	2,91	3,14	2,35	4,53	2,72	2,63	2,76	1,99
Índice de Diversidad de Simpson	0,76	0,74	0,58	0,53	0,66	0,68	0,57	0,78	0,63	0,62	0,64	0,50
Índice de Pielou	0,71	0,70	0,56	0,50	0,63	0,58	0,55	0,75	0,60	0,60	0,61	0,48
Abril 2017, LI - 5												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	15,00	19,00	15,00	13,00	13,00	19,00	14,00	15,00	15,00	13,00	15,00	15,00
Índice de Riqueza de Margalef	2,37	2,83	2,12	1,64	2,00	2,80	1,99	1,88	2,21	1,70	2,07	2,06
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,45	2,75	1,93	1,78	2,06	2,23	1,76	2,68	2,17	2,23	2,19	1,69
Índice de Dominancia de simpson	0,30	0,30	0,48	0,48	0,39	0,36	0,50	0,26	0,40	0,38	0,39	0,53
Índice recíproco Simpson	3,32	3,36	2,10	2,08	2,56	2,81	1,99	3,84	2,53	2,63	2,54	1,87
Índice de Diversidad de Simpson	0,70	0,70	0,52	0,52	0,61	0,64	0,50	0,74	0,60	0,62	0,61	0,47
Índice de Pielou	0,63	0,65	0,49	0,48	0,56	0,52	0,46	0,69	0,56	0,60	0,56	0,43
Abril 2017, LS - 5												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	15,00	19,00	15,00	13,00	13,00	19,00	14,00	15,00	15,00	13,00	15,00	15,00
Índice de Riqueza de Margalef	2,25	2,72	2,08	1,63	1,95	2,75	1,92	1,80	2,18	1,70	2,04	2,04
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,78	3,10	2,32	2,03	2,47	2,60	2,24	2,97	2,46	2,23	2,50	1,99
Índice de Dominancia de simpson	0,22	0,21	0,37	0,42	0,30	0,28	0,36	0,19	0,34	0,38	0,33	0,47
Índice recíproco Simpson	4,65	4,79	2,74	2,41	3,33	3,54	2,79	5,25	2,97	2,63	3,05	2,14
Índice de Diversidad de Simpson	0,78	0,79	0,63	0,58	0,70	0,72	0,64	0,81	0,66	0,62	0,67	0,53
Índice de Pielou	0,71	0,73	0,59	0,55	0,67	0,61	0,59	0,76	0,63	0,60	0,64	0,51

**Anexo 37. Índices biológicos de diversidad alfa para las doce estaciones de muestreo (julio -2017) donde se incorporan 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbres de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. donde LI es el límite inferior y LS es el Límite superior para las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).**

Julio 2017, LI - 3												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	13	12	11	11	12	11	13	12	13	14	13	11
Índice de Riqueza de Margalef	1,63	1,45	1,45	1,43	1,64	1,34	1,68	1,63	1,80	1,81	1,75	1,37
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	1,52	1,59	1,51	1,99	1,67	2,92	2,25	1,86	1,47	1,54	2,10	1,05
Índice de Dominancia de Simpson	0,56	0,51	0,58	0,42	0,53	0,15	0,37	0,47	0,58	0,58	0,37	0,72
Índice recíproco Simpson	1,78	1,98	1,73	2,36	1,89	6,52	2,72	2,11	1,74	1,72	2,71	1,38
Índice de Diversidad de Simpson	0,44	0,49	0,42	0,58	0,47	0,85	0,63	0,53	0,42	0,42	0,63	0,28
Índice de Pielou	0,41	0,44	0,44	0,58	0,47	0,84	0,61	0,52	0,40	0,41	0,57	0,30
Julio 2017, LS - 3												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	13	12	11	11	12	11	13	12	13	14	13	11
Índice de Riqueza de Margalef	1,55	1,42	1,40	1,40	1,56	1,33	1,65	1,59	1,71	1,77	1,71	1,34
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	1,95	1,98	1,94	2,28	2,09	3,13	2,62	2,20	1,91	1,96	2,40	1,53
Índice de Dominancia de Simpson	0,37	0,37	0,40	0,34	0,35	0,14	0,29	0,36	0,37	0,44	0,29	0,53
Índice recíproco Simpson	2,72	2,69	2,53	2,92	2,85	7,27	3,45	2,79	2,71	2,26	3,47	1,90
Índice de Diversidad de Simpson	0,63	0,63	0,60	0,66	0,65	0,86	0,71	0,64	0,63	0,56	0,71	0,47
Índice de Pielou	0,53	0,55	0,56	0,66	0,58	0,91	0,71	0,61	0,51	0,52	0,65	0,44
Julio 2017, LI - 4												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	13	12	11	11	12	11	13	12	13	14	13	11
Índice de Riqueza de Margalef	1,63	1,45	1,45	1,43	1,64	1,34	1,68	1,63	1,80	1,81	1,75	1,37
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	1,52	1,59	1,51	1,99	1,67	2,92	2,25	1,86	1,47	1,54	2,10	1,05
Índice de Dominancia de Simpson	0,56	0,51	0,58	0,42	0,53	0,15	0,37	0,47	0,58	0,58	0,37	0,72
Índice recíproco Simpson	1,78	1,98	1,73	2,36	1,89	6,52	2,72	2,11	1,74	1,72	2,71	1,38
Índice de Diversidad de Simpson	0,44	0,49	0,42	0,58	0,47	0,85	0,63	0,53	0,42	0,42	0,63	0,28
Índice de Pielou	0,41	0,44	0,44	0,58	0,47	0,84	0,61	0,52	0,40	0,41	0,57	0,30
Julio 2017, LS - 4												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	13	12	11	11	12	11	13	12	13	14	13	11
Índice de Riqueza de Margalef	1,55	1,42	1,40	1,40	1,56	1,32	1,65	1,59	1,71	1,77	1,71	1,34
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	1,95	1,98	1,94	2,28	2,10	3,15	2,65	2,20	1,90	1,99	2,40	1,54
Índice de Dominancia de Simpson	0,37	0,37	0,40	0,34	0,35	0,13	0,28	0,36	0,37	0,44	0,29	0,53
Índice recíproco Simpson	2,72	2,70	2,53	2,93	2,86	7,43	3,55	2,79	2,71	2,29	3,48	1,90
Índice de Diversidad de Simpson	0,63	0,63	0,60	0,66	0,65	0,87	0,72	0,64	0,63	0,56	0,71	0,47
Índice de Pielou	0,53	0,55	0,56	0,66	0,59	0,91	0,72	0,61	0,51	0,52	0,65	0,44
Julio 2017, LI - 5												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	13	12	11	11	12	11	13	12	13	14	13	11
Índice de Riqueza de Margalef	1,63	1,45	1,45	1,43	1,64	1,34	1,68	1,63	1,80	1,81	1,75	1,37
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	1,52	1,59	1,51	1,99	1,67	2,92	2,25	1,86	1,47	1,54	2,10	1,05
Índice de Dominancia de Simpson	0,56	0,51	0,58	0,42	0,53	0,15	0,37	0,47	0,58	0,58	0,37	0,72
Índice recíproco Simpson	1,78	1,98	1,73	2,36	1,89	6,52	2,72	2,11	1,74	1,72	2,71	1,38
Índice de Diversidad de Simpson	0,44	0,49	0,42	0,58	0,47	0,85	0,63	0,53	0,42	0,42	0,63	0,28
Índice de Pielou	0,41	0,44	0,44	0,58	0,47	0,84	0,61	0,52	0,40	0,41	0,57	0,30
Julio 2017, LS - 5												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	13	12	11	11	12	11	13	12	13	14	13	11
Índice de Riqueza de Margalef	1,55	1,42	1,40	1,40	1,56	1,29	1,60	1,59	1,71	1,77	1,71	1,34
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	1,95	1,98	1,94	2,28	2,13	3,13	2,70	2,20	1,90	2,04	2,40	1,54
Índice de Dominancia de Simpson	0,37	0,37	0,40	0,34	0,34	0,13	0,24	0,36	0,37	0,43	0,29	0,53
Índice recíproco Simpson	2,72	2,70	2,53	2,93	2,90	7,46	4,21	2,79	2,71	2,35	3,48	1,90
Índice de Diversidad de Simpson	0,63	0,63	0,60	0,66	0,66	0,87	0,76	0,64	0,63	0,57	0,71	0,47
Índice de Pielou	0,53	0,55	0,56	0,66	0,59	0,91	0,73	0,61	0,51	0,54	0,65	0,44

**Anexo 38. Índices biológicos de diversidad alfa para las doce estaciones de muestreo (noviembre -2017) donde se incorporan 5, 4 y 3 fuentes de incertidumbres de *Oocystis lacustris* y *Nitzschia* sp. donde LI es el límite inferior y LS es el Límite superior para las estaciones de muestreo S, M e I (S=estrato superior, M=estrato medio e I=estrato inferior).**

Abril 2017, LI - 3												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	15,00	19,00	15,00	13,00	13,00	19,00	14,00	15,00	15,00	13,00	15,00	15,00
Índice de Riqueza de Margalef	2,37	2,83	2,12	1,64	2,00	2,80	1,99	1,88	2,21	1,70	2,07	2,06
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,45	2,75	1,93	1,78	2,06	2,23	1,76	2,68	2,17	2,23	2,19	1,69
Índice de Dominancia de Simpson	0,30	0,30	0,48	0,48	0,39	0,36	0,50	0,26	0,40	0,38	0,39	0,53
Índice recíproco Simpson	3,32	3,36	2,10	2,08	2,56	2,81	1,99	3,84	2,53	2,63	2,54	1,87
Índice de Diversidad de Simpson	0,70	0,70	0,52	0,52	0,61	0,64	0,50	0,74	0,60	0,62	0,61	0,47
Índice de Pielou	0,63	0,65	0,49	0,48	0,56	0,52	0,46	0,69	0,56	0,60	0,56	0,43
Abril 2017, LS - 3												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	15,00	19,00	15,00	13,00	13,00	19,00	14,00	15,00	15,00	13,00	15,00	15,00
Índice de Riqueza de Margalef	2,35	2,80	2,10	1,64	1,98	2,78	1,96	1,86	2,19	1,70	2,06	2,06
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,67	2,97	2,17	1,85	2,30	2,44	2,06	2,92	2,33	2,23	2,36	1,83
Índice de Dominancia de Simpson	0,27	0,27	0,42	0,47	0,35	0,32	0,43	0,23	0,37	0,38	0,36	0,51
Índice recíproco Simpson	3,71	3,76	2,36	2,13	2,87	3,08	2,32	4,39	2,70	2,63	2,74	1,96
Índice de Diversidad de Simpson	0,73	0,73	0,58	0,53	0,65	0,68	0,57	0,77	0,63	0,62	0,64	0,49
Índice de Pielou	0,68	0,70	0,55	0,50	0,62	0,57	0,54	0,75	0,60	0,60	0,61	0,47
Abril 2017, LI - 4												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	15,00	19,00	15,00	13,00	13,00	19,00	14,00	15,00	15,00	13,00	15,00	15,00
Índice de Riqueza de Margalef	2,37	2,83	2,12	1,64	2,00	2,80	1,99	1,88	2,21	1,70	2,07	2,06
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,45	2,75	1,93	1,78	2,06	2,23	1,76	2,68	2,17	2,23	2,19	1,69
Índice de Dominancia de Simpson	0,30	0,30	0,48	0,48	0,39	0,36	0,50	0,26	0,40	0,38	0,39	0,53
Índice recíproco Simpson	3,32	3,36	2,10	2,08	2,56	2,81	1,99	3,84	2,53	2,63	2,54	1,87
Índice de Diversidad de Simpson	0,70	0,70	0,52	0,52	0,61	0,64	0,50	0,74	0,60	0,62	0,61	0,47
Índice de Pielou	0,63	0,65	0,49	0,48	0,56	0,52	0,46	0,69	0,56	0,60	0,56	0,43
Abril 2017, LS - 4												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	15,00	19,00	15,00	13,00	13,00	19,00	14,00	15,00	15,00	13,00	15,00	15,00
Índice de Riqueza de Margalef	2,31	2,80	2,10	1,64	1,98	2,78	1,96	1,86	2,19	1,70	2,06	2,05
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,78	2,99	2,18	1,87	2,33	2,47	2,09	2,95	2,34	2,23	2,38	1,86
Índice de Dominancia de Simpson	0,24	0,26	0,42	0,47	0,34	0,32	0,43	0,22	0,37	0,38	0,36	0,50
Índice recíproco Simpson	4,23	3,84	2,38	2,15	2,91	3,14	2,35	4,53	2,72	2,63	2,76	1,99
Índice de Diversidad de Simpson	0,76	0,74	0,58	0,53	0,66	0,68	0,57	0,78	0,63	0,62	0,64	0,50
Índice de Pielou	0,71	0,70	0,56	0,50	0,63	0,58	0,55	0,75	0,60	0,60	0,61	0,48
Abril 2017, LI - 5												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	15,00	19,00	15,00	13,00	13,00	19,00	14,00	15,00	15,00	13,00	15,00	15,00
Índice de Riqueza de Margalef	2,37	2,83	2,12	1,64	2,00	2,80	1,99	1,88	2,21	1,70	2,07	2,06
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,45	2,75	1,93	1,78	2,06	2,23	1,76	2,68	2,17	2,23	2,19	1,69
Índice de Dominancia de Simpson	0,30	0,30	0,48	0,48	0,39	0,36	0,50	0,26	0,40	0,38	0,39	0,53
Índice recíproco Simpson	3,32	3,36	2,10	2,08	2,56	2,81	1,99	3,84	2,53	2,63	2,54	1,87
Índice de Diversidad de Simpson	0,70	0,70	0,52	0,52	0,61	0,64	0,50	0,74	0,60	0,62	0,61	0,47
Índice de Pielou	0,63	0,65	0,49	0,48	0,56	0,52	0,46	0,69	0,56	0,60	0,56	0,43
Abril 2017, LS - 5												
ESTACIÓN	M-03	M-04	M-05	M-02	I-02	I-05	I-03	I-06	S-01	S-04	S-03	S-05
Número de especies	15,00	19,00	15,00	13,00	13,00	19,00	14,00	15,00	15,00	13,00	15,00	15,00
Índice de Riqueza de Margalef	2,25	2,72	2,08	1,63	1,95	2,75	1,92	1,80	2,18	1,70	2,04	2,04
Índice de Diversidad Shannon-Wiener	2,78	3,10	2,32	2,03	2,47	2,60	2,24	2,97	2,46	2,23	2,50	1,99
Índice de Dominancia de Simpson	0,22	0,21	0,37	0,42	0,30	0,28	0,36	0,19	0,34	0,38	0,33	0,47
Índice recíproco Simpson	4,65	4,79	2,74	2,41	3,33	3,54	2,79	5,25	2,97	2,63	3,05	2,14
Índice de Diversidad de Simpson	0,78	0,79	0,63	0,58	0,70	0,72	0,64	0,81	0,66	0,62	0,67	0,53
Índice de Pielou	0,71	0,73	0,59	0,55	0,67	0,61	0,59	0,76	0,63	0,60	0,64	0,51